ANALES DE LA UNIVERSIDAD

REPÚBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

ANALES

DE

LA UNIVERSIDAD

Año VI — Tomo IX



MONTEVIDEO

IMPRENTA ARTÍSTICA, DE DORNALECHE Y REYES

77 — Calle 18 de Julio — 79

1897

ANALES DE LA UNIVERSIDAD

AÑO VI | MONTEVIDEO — 1897 | TOMO IX

Etiología y Patogenia de la fiebre amarilla

POR EL

PROF. DR. JOSÉ SANARELLI

Director del Instituto de Higiene Experimental
de la Universidad de Montevideo

PRIMERA PARTE

I

Resumen de nuestros actuales conocimientos sobre la etiología y patogenia de la fiebre amarilla (1)

La fiebre amarilla es una enfermedad reconocida desde hace tiempo como de naturaleza indudablemente específica, pero sobre la cual nuestros conocimientos etiológicos y patogénicos se limitan, hasta ahora, á los resultados de investigaciones científicas insuficientes. La extremada pobreza de tales conocimientos no es debida, por cierto, á falta de notables contribuciones científicas.

(1) *Sinonimia:* Vómito negro — typhus icteroides (lat.) — typhus amaril (franc.) — febbre gialla (ital.) — febre amarella (port.) — gelbfieber (al.) — yellow fever (ing.).

La literatura relativa á la fiebre amarilla ocupa ya, en efecto, un lugar importante en la patología médica de los países cálidos.

A pesar de ello, no ha podido nunca salvar, ni interpretar satisfactoriamente las más sencillas observaciones de la clínica, de la anatomía patológica y de la epidemiología.

Esto es debido á varias causas, que quizá están representadas principalmente: 1.° por la sintomatología, por demás oscura, compleja y proteiforme del cuadro morboso; 2.° por el resultado infructuoso de las múltiples tentativas hechas por diversos autores para hallar y estudiar el agente específico.

En cuanto se refiere al cuadro clínico, la fiebre amarilla constituye un conjunto de síntomas variadísimos que acompañan más ó menos regularmente y pueden compendiarse en el siguiente tipo nosológico común, que ordinariamente se divide en tres períodos:

1.er período. Después de una incubación, que se cree poder fijar entre 2 á 4 días, aparecen los primeros síntomas que, por lo general, se presentan de improviso y violentos. El enfermo, ordinariamente durante el sueño, es presa de un escalofrío más ó menos intenso, seguido de una rápida elevación de temperatura (40°-41° C.).

Otras veces preceden síntomas que no tienen nada de característico y que figuran en los signos comunes de las infecciones agudas graves: cefalalgia, dolor intraorbitario, cansancio general, dolores musculares, dolor epigástrico, náuseas, vómito y, sobre todo, raquialgia intensa.

En pocas horas el estado general del paciente se pone gravísimo: la piel está unas veces seca y otras cubierta de sudor, la cara y los ojos se inyectan, las pupilas se dilatan y la mirada se pone brillante y asustada como la de un ebrio.

Aparece un insomnio penoso y una agitación indefinible, angustiosa, persistente, acompañada siempre de raquialgia espasmódica — el *coup de barre* de los autores franceses — y de una opresión epigástrica tan molesta, que postran al enfermo en un extremo abatimiento físico y moral.

Una persistente intolerancia gástrica, acompañada de náuseas y sed ardiente, precede de poco tiempo á los desórdenes de

las funciones digestivas, que se manifiestan por vómitos, primero alimenticios, después mucosos, y por último biliosos. Rara vez hay diarrea; la regla es la constipación. Además, la lengua está empastada y roja en los bordes, las encías tumefactas y sangrando, la mucosa del velo del paladar y de la faringe congestionada é inflamada. La orina es escasa, muy coloreada y ligeramente albuminosa.

Todos estos síntomas persisten y se agravan en los dos ó tres primeros días, durante los cuales la temperatura llega á su máximum, que es de 40°-41° C., presentando muy débiles remisiones.

En este estado aparecen, por lo general, la ictericia y el llamado *vómito negro,* que es debido á las frecuentes hemorragias gástricas.

2.° período. Hacia el cuarto día se produce en el estado del enfermo un cambio sorprendente de todos los síntomas.

La fiebre cesa; la cefalalgia, la raquialgia y las mialgias desaparecen al mismo tiempo que la sed y la congestión de las mucosas y de la piel, que se torna suave y fresca.

El paciente experimenta una sensación subjetiva de insólito bienestar; reaparece la alegría y la confianza en una pronta curación. Pero, la sensibilidad epigástrica característica y el vómito no desaparecen por completo; así es que si el enfermo no entra en franca convalecencia después de este estadío de remisión, que puede durar de algunas horas hasta dos días, entonces se sigue el

3.er período, que se caracteriza, en general, por la ascensión de la temperatura y por una rápida exacerbación de todos los síntomas. Entonces la sensibilidad gástrica y el vómito recrudecen, la ictericia se hace más intensa, el pulso filiforme y la piel es asiento de traspiraciones sumamente fétidas.

El enfermo cae presa de profundo abatimiento, que lo hace inconsciente; las facciones se desfiguran; incesantes hemorragias se presentan por la nariz, los intestinos, los oídos, las conjuntivas, los órganos genitales, etc.; la boca es asiento de una intensa estomatitis, y la anuria se anuncia acompañada por horribles dolores lumbares.

Entretanto los vómitos de sangre extenúan al paciente, quien

bien pronto es atacado del delirio que precede al progresivo é irreparable colapso, caracterizado especialmente por el descenso de temperatura y la pequeñez del pulso.

Por último sobreviene el hipo; el vómito se hace casi continuo; el enfermo cae en sopor y muere en coma ó en convulsiones entre el quinto y el séptimo día de enfermedad, presentando un cuadro final de los más espantosos.

Éste es, poco más ó menos, el tipo clínico ordinario de la fiebre amarilla; mas, como sucede en todas las enfermedades infecciosas, este tipo es susceptible de tan infinitas variaciones, de complicaciones tan varias, que puede decirse que la fiebre amarilla no es nunca idéntica á sí misma.

Las *excepciones* más frecuentes y que merecen ser señaladas para la mejor comprensión de algunos hechos que más adelante estudiaremos, son las siguientes: 1.° no es posible establecer un tipo térmico *específico* de la fiebre amarilla, porque éste varía con una frecuencia superior á la del tipo térmico considerado como normal; 2.° la ictericia puede manifestarse desde el principio ó puede aparecer en plena convalecencia; 3.° el vómito puede ser precoz ó tardío, y en vez de hemorrágico puede ser bilioso durante toda la enfermedad; 4.° la muerte, en vez de ocurrir entre el quinto y el séptimo día, puede producirse después de 48 horas (formas fulminantes) ó retardarse hasta el décimo ó duodécimo día.

Las *complicaciones* más conocidas que sobrevienen en el curso de la fiebre amarilla son: la disentería, las parotiditis, abscesos y erupciones forunculosas, que aparecen lo más comunmente hacia el último período de la enfermedad ó al principio de la convalecencia.

Las *recaídas* son siempre graves y pueden presentarse en épocas muy alejadas del principio de la convalecencia. Yo he conocido un caso en el que la recaída se produjo al mes.

Las *recidivas* son raras. Son más frecuentes después de un ataque ligero, que después de uno grave, por lo que puede aceptarse como regla, que obtenida la curación, el hombre adquiere lentamente su inmunidad y queda, á lo menos por cierto tiempo, bien vacunado.

Por lo que respecta á las *lesiones anatómicas,* la fiebre amarilla puede considerarse como el tipo de las enfermedades esteatógenas, pues en ella predominan los fenómenos congestivos y hemorrágicos en el orden sintomatológico, y en el orden anatómico aparecen en primera línea las lesiones degenerativas.

En efecto, en la autopsia encontramos: 1.º en los *centros nerviosos:* hiperemias, infiltraciones serosas, fuerte congestión y hemorragia de las meninges y de la capa superficial de los órganos cerebro-espinales, con un máximum en la porción dorso-lumbar de la médula espinal; cuyo hecho se considera universalmente relacionado con la raquialgia, que es uno de los síntomas iniciales más característicos de la fiebre amarilla.

2.º en el *aparato respiratorio:* equimosis de las pleuras y de los pulmones, y á veces catarro agudo de la tráquea y bronquios.

3.º en el *aparato circulatorio:* degeneración grasa del miocardio, pericarditis serosa ó hemorrágica.

4.º en el *aparato digestivo: estómago* con signos de una gastritis aguda más ó menos intensa; *intestino* con su mucosa unas veces completamente normal, otras hiperémica y también ulcerada en los casos de larga duración; *hígado* con degeneración grasa más ó menos intensa y generalizada, comparable en ciertos casos á la que se observa en el envenenamiento por el fósforo ó por el arsénico, y que da al órgano un aspecto tan característico, que ha sido llamado de *hoja muerta, cuero viejo, piel de gamuza,* etc.

5.º los *ganglios mesentéricos* se presentan, ya tumefactos, ya de volumen, aspecto y consistencia normales.

6.º en el *aparato urinario: nefritis* aguda, más ó menos grave, con degeneración grasa de los epiteliums renales; *vejiga urinaria* casi siempre retraída, á veces congestionada y conteniendo escasa cantidad de orina, ordinariamente albuminosa, rara vez hemorrágica.

7.º el *bazo* participa poco de las lesiones de la fiebre amarilla: permanece casi siempre con el volumen normal, y sólo aparece un poco aumentado cuando la enfermedad pasa el octavo día.

Este hecho adquiere cierta importancia para el diagnóstico, pues permite establecer una distinción radical entre la fiebre amarilla y todo el grupo de las fiebres palustres.

8.º Respecto á la *sangre*, además de la notable disolución globular y de la cantidad de urea contenida — que fué determinada en proporciones muy variables, del 0.05 al 3,87 ‰ — llaman la atención las hemorragias, que por su frecuencia, gravedad y multiplicidad de vías por las cuales se producen, constituyen algo característico de la fiebre amarilla. Estas hemorragias pueden verificarse: *a)* por las soluciones de continuidad ó por la superficie de la piel simplemente denudada de epidermis; *b)* en el espesor de la piel intacta (petequias, púrpura, placas violáceas, etc.); *c)* en el tejido subcutáneo é intermuscular; *d)* en el espesor ó en la superficie de las mucosas externas (mucosa óculo-palpebral, auricular, faringo-bucal, lingual, gengival, nasal, etc.); *e)* en el espesor y en la superficie de la mucosa gastro-intestinal (deyecciones y vómitos negros, forma hemorrágica: la más característica de la fiebre amarilla); *f)* por las mucosas uretral y vesical (muy raras); *g)* en el espesor y en la superficie de las serosas, de las meninges cerebro-espinales y de los órganos parenquimatosos.

No existe, pues, ninguna lesión verdaderamente patognomónica de la fiebre amarilla. La misma tendencia tan pronunciada á la degeneración grasa y á la hematolisis se observa en muchas otras enfermedades (envenenamiento por el fósforo, arsénico y alcohol, fiebre tifoidea, tifus recurrente, escorbuto, etc.).

Las alteraciones catarrales de la mucosa gastro-intestinal, las erosiones de la mucosa gástrica, la hiperemia de las meninges y de algunos parénquimas, aunque tienen en la fiebre amarilla una importancia capital, conviene recordar que no son del todo especiales de esta enfermedad, sino que se encuentran en muchos otros estados morbosos, ya como lesiones iniciales, ya como procesos secundarios.

No obstante, en su conjunto, las alteraciones de la fiebre amarilla constituyen, como dice Jaccoud: «un criterio anató-«mico más neto y mejor definido que el de la mayor parte «de las enfermedades infecciosas.»

¿Cuál es el proceso y el agente patogénico de una forma morbosa tan grave y compleja?

En una época ya muy lejana, gozó de crédito entre los médicos la opinión según la cual la fiebre amarilla era debida á influencias palustres.

Después se admitió la existencia de un microbio específico, en cuya investigación se han cansado en vano muchos bacteriólogos.

Sobre los resultados de estos estudios, casi siempre negativos ó erróneos, y á veces también fantásticos y paradojales, es inútil discutir ahora.

El doctor G. Sternberg (1) de Baltimore, autor de la contribución etiológica más reciente, más abundante y mejor hecha hasta hoy, declara que el microbio específico de la fiebre amarilla está aún por descubrirse, y afirma que esta cuestión debe tomarse de nuevo *ab initio* (2).

No obstante, de acuerdo con la mayor parte de los autores, y basándose, no solamente en los resultados bacteriológicos negativos, que se obtienen con la sangre y las vísceras, sino también en la localización gástrica de las principales manifestaciones morbosas, *Sternberg* cree que se trate muy probablemente de una infección local, cuyo principal asiento sería el estómago. Allí el agente infeccioso, todavía desconocido, elabora-

(1) *Report on the Etiology and prevention of Yellow Fever.* — Wáshington, 1890.

(2) No obstante la reserva que me he impuesto en la fácil y poco interesante crítica de los trabajos sobre la etiología de la fiebre amarilla, no me es posible pasar en silencio numerosas publicaciones del doctor Domingos Freire, de Río Janeiro, quien desde hace años insiste sobre el descubrimiento de un microbio que considera como agente específico de esta enfermedad.

El microbio del doctor D. Freire sería un «micrococcus negro con un punto claro central» *(micrococcus ó cryptococcus xantogenicus)*, capaz de licuar la gelatina, de producir pigmentos amarillo y negro (la materia del vómito negro!), ptomainas líquidas y gaseosas, y susceptible de multiplicarse por esporulación, de encapsularse durante el invierno.... de atenuarse, de transformarse en vacuna, etc., etc.

Efectivamente, después de una original conferencia de propaganda, á la que pude asistir durante mi estadía en Río Janeiro, el doctor Freire mostró al microscopio una preparación de *coccus* que no tenían ninguna relación morfológica con los *coccus* tan fantásticamente descritos en sus innumerables publicaciones.

La constatación de este solo hecho nos evita muchos inútiles ó ingratos juicios sobre la extraña obra de este hombre de ciencia, que está representada por una larga y deplorable serie de publicaciones completamente faltas de verosimilitud, de seriedad y de toda base científica.

ría las sustancias tóxicas cuya absorción por la sangre daría lugar á los síntomas generales característicos de la fiebre amarilla.

Consecuente con esta idea, *Sternberg*, con todos los otros autores, aconseja en el tratamiento de la fiebre amarilla el uso de los alcalinos y de los desinfectantes gastro-intestinales.

II

Investigación y aislamiento del microbio específico de la fiebre amarilla del enfermo y del cadáver

Mis primeras investigaciones datan de Febrero de 1896.

Llamado por la Universidad de Montevideo para fundar y dirigir su Instituto de Higiene Experimental, uno de mis primeros cuidados fué instalar un pequeño Laboratorio en el Lazareto de la Isla de Flores, situada en el Río de la Plata, á pocas leguas de Montevideo.

En este Lazareto suelen, durante el verano, ocurrir siempre algunos casos de fiebre amarilla en individuos procedentes, por vapores mercantes, de Río Janeiro ó de Santos, donde por lo general reina el tifus icteroide al estado endémico, con mayor ó menor intensidad.

Mi intención era orientarme con algunas investigaciones en el Lazareto de Flores, antes de dirigirme al Brasil á estudiar sobre más abundante material.

En la Isla de Flores, atendido con solicitud por el médico del Lazareto doctor Devincenzi, pude estudiar detenidamente los tres casos siguientes, dos de los cuales fueron mortales:

Observación I

James Murray, de Manchester (Inglaterra), de 17 años, mozo á bordo del vapor mercante *Aymestrey.*

Procedente del Cabo de Buena Esperanza, se detuvo durante unos 20 días en Río Janeiro, bajando á tierra varias veces. Se enfermó durante el viaje de Río Janeiro á Montevideo el 20 de Febrero, y murió en la Isla de Flores el 26 del mismo mes, á las 8 p. m., después de 6 días de enfermedad.

Durante la enfermedad tuvo un solo vómito negro abundante, y tres imponentes enterorragias el mismo día de la muerte.

AUTOPSIA

(Practicada 18 horas después de la muerte)

Aspecto exterior: rigidez cadavérica poco pronunciada, color de la piel amarillo claro, manchas hipostáticas en las partes declives.

Cráneo: fuertes adherencias entre la bóveda craneana y las meninges edematosas y congestionadas; la masa encefálica y la médula espinal presentan un tinte ictérico muy marcado.

Tórax: antiguas adherencias en la cavidad pleural derecha; fuerte hipostasis pulmonar; corazón pálido y fláxido; la cavidad pericardíaca contiene serosidad de color amarillo.

Abdomen: el *estómago,* bastante distendido por gases, contiene una regular cantidad de líquido oscuro color rojo-café y reacción ácida; la mucosa, muy congestionada, presenta vastas equimosis y erosiones epiteliales; los *intestinos,* distendidos por gases, contienen gran cantidad de una materia oscura viscosa; la porción *delgada* está poco alterada, pero el *colon* y el *intestino grueso* se presentan congestionados y con erosiones que en algunos puntos interesan hasta la túnica muscular. La reacción del líquido contenido en el duodeno é intestino delgado es neutra, la del colon ácida. Algunos *ganglios mesentéricos* están hipertrofiados; el *hígado* parece algo disminuído de volumen y presenta un marcado color amarillo, debido á evidente degeneración grasa; el parénquima bastante friable y casi exangüe; la *vesícula biliar,* en apariencia sana, contiene cerca de 30 c. c. de líquido verde; el colédoco libre; el *bazo* pesa 250 grs., está fláxido, pero de aspecto normal;

los *riñones* fuertemente congestionados; la *vejiga urinaria*, retraída, contiene poca cantidad de orina clara, albuminosa.

Diagnóstico anatómico: fiebre amarilla.

Investigaciones microscópicas

Hallándome por primera vez en presencia de una enfermedad cuyas lesiones anatómicas tienen su principal asiento en el aparato digestivo, al contenido de éste dirigí mis primeras investigaciones microscópicas.

He aquí el resultado: *Estómago,* el líquido que contiene es de color rojizo; recogido en un vaso cónico deposita un sedimento color de heces de vino, cubierto por un líquido rojo oscuro. El examen del sedimento demuestra la existencia de una enorme cantidad de pigmento hemático, de gotas de grasa, de grandes masas de células epiteliales con degeneración grasa y de microbios. *Intestino delgado:* el líquido contenido es de color café, sin señales de sangre rutilante; el examen microscópico revela la presencia de un pigmento amorfo (sangre alterada), glóbulos blancos, células epiteliales y microbios. *Intestino grueso:* su contenido tiene reacción alcalina y color de tierra de Siena quemada.

Parece ser la porción del tubo intestinal donde las lesiones de la mucosa se han manifestado con mayor intensidad. El examen microscópico no descubre la presencia de ningún residuo alimenticio, y toda la masa oscura está formada por grandes pedazos de pigmento amarillento, en medio de los cuales se ven numerosos leucocitos, gran cantidad de células epiteliales completamente degeneradas y reunidas en masas teñidas de amarillo, glóbulos rojos más ó menos alterados y microbios.

El examen de la *sangre,* aparte de una profunda alteración de todos los hematíes, no descubre ningún detalle interesante.

Investigaciones bacteriológicas

De la sangre, de los humores y de todas las vísceras practico gran cantidad de cultivos sobre variados medios nutritivos. Merced á un largo y paciente trabajo de selección, consigo aislar en cultivos puros siete variedades microbianas, cuyo estudio ulterior me ha permitido identificarlas en las siguientes especies que enumero por orden de frecuencia:

1.ª *Proteus vulgaris:* especie que predomina sobre todas las demás en cualquier parte del cadáver y que aparece sola, en cultura pura, en el bazo y en la vesícula biliar. Las colonias en gelatina de los primeros cultivos del cadáver eran perfectamente circulares, regulares, fluidificantes, irisadas y con núcleo central de forma radiada; sólo en cultivos posteriores pude verificar la aparición en la gelatina de las

2

colonias globulosas en forma de ovillo, con sus penachos característicos.

Los cultivos en caldo de este *proteus*, inofensivos para los cobayas, mataban á los conejos en 12 horas á la dosis de 0.2 c. c.

2.ª *Colibacillus:* predomina en el estómago y en el hígado, abundante en la sangre y en todas las vísceras del cadáver.

3.ª *Bacillus fluidificante x:* saprofito vulgar, fluidifica rápidamente la gelatina, con reacción indol-nitrosa. Especie no patógena para los animales, abunda en el intestino grueso y no se encuentra en el resto del organismo.

4.ª *Diplococcus fluidificante x:* predomina en los intestinos grueso y delgado, y falta en los demás órganos. Especie no patógena para los animales.

5.ª *Bacillus pseudo tífico:* microbio que presenta todos los caracteres principales del verdadero bacillus de Eberth (reacción negativa del indol, no fermenta la lactosa ni la sacarosa, fermenta la glucosa, se desarrolla sobre gelatina Holz, no coagula la leche, no enrojece el agar al tornasol de Wurtz, etc.). Es patógeno para los conejos y cobayas y se distingue de cuatro variedades de *bacillus tífico* auténtico, estudiadas como control al mismo tiempo, en que éstas últimas toleran en 10 c. c. de caldo sólo 9 gotas de la mezcla clorofénica Parietti, mientras que el primero puede desarrollarse — aunque lentamente — en presencia de 15 gotas y además se desarrolla con abundancia sobre patatas.

Este microbio pseudo tífico fué aislado en corto número solamente de la sangre recogida en el corazón.

6.ª *Bacillus pyocyaneus:* se encontró en pequeña cantidad en el contenido del intestino grueso.

7.ª *Bacillus cromogeno x:* vulgar saprofito, de color amarillento, fluidifica la gelatina y carece de toda acción patógena. Fué hallado en una sola colonia del contenido gástrico.

Después de un estudio detallado de estas siete especies microbianas, y después de múltiples y variadas experiencias de patología comparada, efectuadas sobre todo con la especie número 5, me convencí de que á ninguna de ellas podía atribuirse alguna significación etiológica en la fiebre amarilla, y consideré sobre todo al *proteus* y al *colibacillus* como agentes de una infección mixta secundaria, capaces cuando más, de haber precipitado la muerte por su abundante y rápida difusión en el organismo.

Observación II

Carl Jensen, de Bergen (Noruega), de 23 años, maquinista á bordo del vapor mercante *Munin*.

Cayó enfermo el 20 de Marzo, dos días después de haber dejado el puerto de Río Janeiro, donde había permanecido 7 días sin bajar á tierra. No obstante, el vapor *Munin* hizo en Río provisión de carne, verdura, agua y lastre.

La enfermedad empezó con un intenso escalofrío que duró 2 horas.

Al día siguiente aparecen la cefalea, la raquialgia y el vómito bilioso que siguen durante todo el tercer día. El cuarto día remiten todos los síntomas, tanto que el enfermo, dueño de sí mismo, se cree curado. Pero al quinto día fué sorprendido por abundantes y repetidos vómitos de sangre, empezó la anuria y á la noche comenzó el delirio.

Transportado al hospital del Lazareto, el sexto día presentaba ya intensa ictericia, fetidez del aliento, lengua saburral y ulcerada, pulso filiforme é irregular, temperatura axilar 37.5.

Practico una incisión aséptica en el pulpejo de un dedo de la mano y recojo algunas gotas que siembro en caldo y en la superficie de varios medios nutritivos.

Á las cuatro de la mañana del séptimo día (26 de Marzo), el paciente muere en coma.

AUTOPSIA

(Efectuada 2 horas después de la muerte)

Aspecto exterior: cadáver caliente aún, tegumentos cutáneos manchados de color amarillo canario; extensas zonas hipostáticas en todas las partes declives.

Cráneo: masa encefálica de aspecto normal, edema meníngeo de color ictérico.

Tórax: pulmones normales y ligero catarro de la tráquea y los gruesos bronquios; *corazón* normal, conteniendo sangre en parte líquida aún; *pericardio* con trasudado seroso amarillento, en pequeña cantidad.

Abdomen: estómago distendido por gases, fuertemente congestionado y con pequeña cantidad de un líquido rojizo; *intestino delgado* casi vacío, algo congestionado y con erosiones epiteliales en algunos puntos.

Glándulas del mesenterio: normales.

Hígado de consistencia y volumen normales, de color amarillo pálido y rico de sangre. La *vesícula biliar* contiene próximamente 30 c. c. de líquido verdoso muy viscoso, pero el conducto coledoco está completamente libre.

Bazo algo engrosado, de color oscuro, duro y resistente al corte.

Riñones con los datos anatómicos de nefritis aguda bastante intensa.

Vejiga urinaria muy contraída, casi escondida detrás del pubis, contiene cerca de 100 c. c. de orina turbia, albuminosa y sanguinolenta.

Diagnóstico anatómico: fiebre amarilla.

Análisis químico de la sangre (1): cantidad de urea = 3.35 ‰.

Investigaciones bacteriológicas

Preparo gran número de cultivos de todos los tejidos, líquidos y cavidades del organismo en variadísimos medios nutritivos.

El resultado del estudio de las colonias y de su separación hechos en el mismo Laboratorio de la Isla de Flores durante 18 días consecutivos, fué el siguiente: de la sangre extraída del dedo del enfermo el día antes de la muerte, lo mismo que de la sangre del cadáver, del bazo, del hígado, de los pulmones, de la bilis y de la orina, aislo en cultivo puro y en regular cantidad, un bacillus que á primera vista me pareció presentar algunos caracteres interesantes y dignos de atención, y que estudios posteriores me hicieron sospechar primero, y creer más tarde, fuera el agente específico de la fiebre amarilla.

Este microbio se encontraba solamente en los riñones y en el catarro bronco-traqueal asociado al *colibacillus.*

No pude conseguir aislarlo en ninguno de los numerosos cultivos en placas preparadas con el contenido gastro-intestinal, en las cuales dominaban solas, en estado de pureza absoluta, muchas variedades de *colibacillus.*

Habiéndome demostrado, un rápido y atento examen de los principales caracteres biológicos y morfológicos de este microbio, que se trataba de una especie enteramente nueva, muy

(1) El método de análisis usado para la determinación cuantitativa de la urea en la sangre en todas mis investigaciones, fué el siguiente: obtenido el extracto alcohólico de la sangre, evaporo á sequedad y vuelvo á tratar por el alcohol absoluto en frío. Evaporo el extracto alcohólico, redisuelvo el residuo en agua y precipito por el subacetato de plomo; filtro y elimino el exceso de plomo por una corriente de ácido sulfhídrico; filtro de nuevo para separar el sulfuro de plomo, y concentro el líquido al baño María hasta reducirlo á pocos centímetros cúbicos. En seguida procedo á la dosificación de la urea por el hipobromito. (Véase: *Encyclopédie Chimique* de Fremy.—Tomo IX, sección II, fasc. II, página 175.)

característica é interesante, quise aprovechar las condiciones excepcionales de fácil diagnóstico morfológico diferencial en que me hallaba — sobre todo respecto del *colibacillus* que existía en cultivo puro en el canal digestivo — para descubrir en este último la presencia del nuevo microbio aislado del cadáver.

Pero mis pacientes investigaciones fueron todas infructuosas; por más que podía suponerse que debido á las frecuentes hemorragias de la mucosa digestiva, el susodicho microbio pasara á lo menos en pequeña cantidad á la cavidad gastro-intestinal.

Estos resultados negativos obtenidos por mí, no excluyen la posibilidad de ese pasaje, pero entretanto atestiguan que el microbio de la fiebre amarilla no tiene ciertamente su *habitat* favorito en el tubo digestivo.

Veremos más tarde cómo este primer resultado está completamente de acuerdo con la teoría patogenética de la fiebre amarilla, que se ha ido desenvolviendo poco á poco como resultado de mis investigaciones.

Observación III

Rasmus Hille, de Bergen (Noruega), de 32 años, marinero del mismo vapor *Munin.*

Se enfermó el mismo día que su compañero, presentando casi los mismos fenómenos morbosos, con la única diferencia de que el vómito fué siempre bilioso y no se produjeron por consiguiente gastrorragias.

Desembarcó en la Isla de Flores al sexto día de su enfermedad, con síntomas generales muy atenuados y una temperatura axilar de 38° C.

Al día siguiente (26 de Marzo), á las 8 a. m., la temperatura era de 37°8; el paciente acusaba todavía cefalalgia, raquialgia y dolor epigástrico.

Practico una pequeña sangría aséptica en el pulpejo de un dedo, recojo asépticamente la orina y hago numerosísimos cultivos con las heces fecales.

Los cultivos practicados con la sangre quedaron completamente estériles; los hechos con la orina — que era muy albuminosa — dieron dos

variedades de *colibacillus* y un voluminoso *coccus*, y los de las deyecciones el *colibacillus* y un grueso bacterio fluidificante.

Al otro día el enfermo estaba apirético y entró en franca convalecencia.

Después de haber estudiado y recogido rápidamente en el mismo Laboratorio de la Isla de Flores, los datos más importantes relativos á la morfología y patogenia del microbio que tanto me había llamado la atención, volví á Montevideo, en donde, hasta el mes de Junio siguiente, me dediqué activamente á desarrollar acerca de él una larga serie de experiencias é investigaciones.

Los resultados de esas experiencias constituyen una parte muy principal de esta memoria, y su significación me pareció tan importante, que me indujo á proseguir con mayor empeño aún por la vía emprendida.

Resolví, en consecuencia, trasladarme á Río Janeiro, con el objeto de tener á mi disposición más abundante material de estudio.

Entre este material de estudio — sin perder de vista todos los otros microbios, que siempre creí útil aislar completa y sistemáticamente en todas mis investigaciones — dirigí, sobre todo, mi atención á constatar la presencia del microbio antes citado, que, para facilitar la exposición, designaremos por ahora con el impropio nombre de *bacillus icteroide.*

Aleccionado ya por los resultados de la Observación I, y sobre todo por el relato de las numerosas é infructuosas investigaciones de *Sternberg,* comprendí en seguida que en la fiebre amarilla las infecciones mixtas secundarias debían ser extraordinariamente frecuentes.

Antes de partir para Río Janeiro traté, por consiguiente, de familiarizarme con el diagnóstico bacteriológico rápido del *bacillus icteroide.*

Fácilmente lo conseguí, gracias á un artificio de cultivo por demás simple y original, que permite distinguir al primer golpe de vista sobre gelosa, aún después de 24 horas solamente, los cultivos del *bacillus icteroide* de los de todos los otros microbios conocidos hasta hoy.

Sin este artificio, cuya técnica describiré minuciosamente más adelante, creo hubiera sido casi imposible, para cualquiera, aventurarse con éxito en la investigación del *bacillus icteroide,* que, como veremos, suele encontrarse en los cadáveres en corto número y mezclado con muchas otras especies microbianas, entre las cuales domina fatalmente el *colibacillus,* con el cual es muy fácil confundirlo.

Además del rápido diagnóstico diferencial mencionado, por medio de los cultivos en gelosa, he empleado siempre en todas mis investigaciones los cultivos en caldo con lactosa al 2 °/o adicionado de $CaCO_3$, puesto que aunque el *bacillus icteroide,* como veremos más adelante, ataca débilmente la lactosa, sin embargo no produce una evidente fermentación del caldo lactosado, y esto constituye otro signo de diagnóstico excelente para distinguirlo inmediatamente del *colibacillus.*

Acerca de este segundo artificio de técnica, debe tenerse muy en cuenta una particularidad, cuya ignorancia expondría al investigador á un fracaso seguro, siempre que se hallara el *bacillus icteroide* mezclado con el *streptococcus;* lo que sucede con gran frecuencia.

Ni el *bacillus icteroide,* ni el *streptococcus,* cultivados separadamente en el caldo de Perdrix, producen fermentación aparente; pero, cuando se encuentran reunidos, atacan el azúcar con producción de ácido láctico y formación de lactato de cal, á expensas del carbonato, lo que determina abundante producción de pequeñas burbujas de gas anhidrido carbónico.

La ignorancia de este hecho expondría, como se ve, al experimentador á considerar como *colibacillus* al mismo *bacillus icteroide,* cuando éste se hallara unido al *streptococcus* en un cultivo en caldo lactosado.

Una pequeña parte del abundante material bacteriológico reunido en Río Janeiro, pude diagnosticarlo y clasificarlo á medida que lo iba recogiendo; pero, en la mayor parte de los casos, la extremada frecuencia y variedad de las infecciones mixtas no me dejaba suficiente tiempo para identificar cada una de las colonias, por lo que me limitaba, en cada caso, á aislarlas rápidamente, reservando para mi vuelta á Montevideo el largo

y paciente trabajo de clasificación y diagnóstico bacteriológico.

Cuando llegué á Río Janeiro, el 9 de Junio del año pasado, la epidemia de fiebre amarilla se encontraba ya en período de rápida declinación.

Gracias á la inolvidable amabilidad del doctor C. Seidl, director del Hospital de San Sebastián, pude instalar inmediatamente mi laboratorio de viaje en aquel establecimiento destinado á los atacados de fiebre amarilla, donde, durante el curso de mis trabajos, fuí galantemente atendido también por los doctores F. Fajardo y M. Couto.

Cumplo con el deber de agradecer vivamente á estos tres distinguidos colegas su oficiosa y eficaz cooperación.

Durante los meses de Junio y Julio tuve oportunidad, en el Hospital de San Sebastián, de estudiar cuidadosamente, bajo el punto clínico, bacteriológico y anatomo-patológico, diez enfermos de fiebre amarilla típica.

De estos diez, sólo uno curó después de haberse hallado en gravísimo estado.

A él se refiere la observación siguiente:

Observación IV

Alejandro Kraczkevitch, de 44 años, carpintero, natural de Varsovia (Polonia), reside en Río Janeiro desde hace 5 años y medio.

Entra al Hospital de San Sebastián el 10 de Junio, presentando desde cuatro días atrás los síntomas de la fiebre amarilla.

Presentaba, á su ingreso en el Hospital, fiebre á 39°6, con albuminuria, gastralgia y raquialgia. El día 11 empiezan á aparecer vómitos mucosos y continuas epistaxis, mientras el pulso se hace cada vez más pequeño. No obstante, la temperatura presenta una gran remisión el día 12, y el 13 es normal. Pero el mismo día aparece el *vómito negro* abundante y empieza la anuria; el 14 la temperatura sube algo, hasta 37°8, la pequeña cantidad de orina es muy albuminosa y el enfermo tiene delirio.

Practico una pequeña sangría aséptica en el pulpejo de un dedo y hago varios cultivos de sangre; una punción exploradora del hígado

me da algunas gotas de jugo hepático, con el cual hago también algunos cultivos. Todos ellos permanecen estériles.

Al día siguiente (15) el paciente está completamente anúrico, presa de violento delirio, aunque la temperatura oscila entre 37º4 y 37º1.

Practico nuevamente punciones en el pulpejo del dedo y en el hígado y hago cultivos. De los tubos de gelosa sembrados con jugo hepático, obtengo algunas colonias, pertenecientes á dos especies de microbios. La primera especie, más numerosa, estaba representada por un voluminoso bacterio fluidificante; la segunda, poco numerosa, por el *bacillus icteroide.*

El día 16 disminuye el delirio y reaparece la orina: en los días siguientes se acentúa la mejoría de todos los síntomas; la temperatura oscila entre 36º8 y 37º2; el 19 se manifiesta ictericia generalizada; el 23 disminuye la cantidad de albúmina en la orina, y el 26 desaparece por completo. El paciente es dado de alta completamente curado.

Observación V

Silverio J. López, de 22 años, portugués, peón del Cementerio de San Francisco; reside en Río Janeiro desde hace 8 meses.

El 12 de Junio se siente de pronto asaltado por escalofrío, raquialgia y cefalea, y entra al Hospital el 14, con todos los síntomas de la fiebre amarilla.

El día 15 empiezan el vómito negro y la anuria, el 16 hay ligera remisión de todos los síntomas; pero al anochecer del 17 se agravan de nuevo y el paciente muere súbitamente á las 11 de la noche, después de 5 días de enfermedad.

Temperatura del enfermo

Junio	Mañana	Tarde
14	39º8	40º0
15	39.0	39.6
16	33.4	38.6
17	37.0	37.7

AUTOPSIA

(Efectuada ocho horas después de la muerte)

Aspecto exterior: tegumentos cutáneos de color amarillo pálido.

Tórax: abundante trasudado, seroso, amarillento en el pericardio; degeneración grasa del *corazón; pulmones* normales.

Abdomen: estómago con signos de gastritis aguda y conteniendo líquido sanguinolento; *intestinos* algo hiperemiados; *hígado* color de hoja muerta; *vesícula biliar* casi vacía; *bazo* algo tumefacto; *riñones* nefríticos; *vejiga urinaria* contraída y con pequeñísima cantidad de orina albuminosa.

Diagnóstico anatómico: fiebre amarilla.

Investigaciones bacteriológicas

Preparo gran cantidad de cultivos en gelosa, gelatina y caldo lactosado. En todos estos medios nutritivos se desarrollan muchas especies microbianas que, debidamente aisladas, fueron clasificadas según su asiento respectivo, en el orden siguiente:

Sangre: presencia de numerosos *bacterios coliformes, streptococcus* y un bacterio anaerobio gasógeno; *trasudación del pericardio,* pocos microbios *coliformes; hígado,* gran cantidad de *streptococcus* y *colibacillus; bilis,* bacterio anaerobio gasógeno idéntico al hallado en la sangre; *bazo, streptococcus* en cultivo puro; *riñones,* muchos *streptococcus* y *colibacillus,* varias colonias de un microbio idéntico al aislado en la Observación II, y que ya he designado con el nombre de *bacillus icteroide.*

Análisis químico de la sangre: urea = 1.35 ‰.

Observación VI

Romeu Ferreira, de 11 años, negro, de San Pablo (Brasil), residente en Río Janeiro desde hace 5 meses.

El 14 de Junio siente los principales síntomas de la fiebre amarilla; pero se presentan tan leves, que el niño sólo entra al Hospital el 16 á las 9.30 p. m., con una temperatura de 37.7. Durante todo el día siguiente (17), el estado del pequeño enfermo parecía mejorar tan rá-

pidamente, que se hizo un pronóstico completamente favorable. La temperatura axilar era de 37.0. En la noche del 17 al 18 durmió tranquilamente, pero al amanecer la temperatura subió á 39.1. A las 4 de la mañana el niño tuvo sed, y como á pesar de la fiebre el estado general era todavía satisfactorio, bajó de la cama para tomar un vaso de agua.

Apenas tocó el suelo tuvo un abundante vómito negro, y cayó muerto como por un rayo después de cuatro días de enfermedad.

AUTOPSIA

(Efectuada 3 horas después de la muerte)

Aspecto exterior: marcado color ictérico en las escleróticas.

Tórax: degeneración grasa del *miocardio; pulmones* normales.

Abdomen: estómago congestionado y lleno de sangre; *intestinos* normales; *hígado* hipertrofiado y de color amarillo característico; *bazo* algo engrosado; *riñones* congestionados; *vejiga urinaria* completamente retraída y vacía; *ganglios linfáticos* del mesenterio enormemente hipertrofiados.

Diagnóstico anatómico: fiebre amarilla.

Análisis químico de la sangre: urea = 1.16 ‰.

Investigaciones bacteriológicas

Los numerosos cultivos practicados con la sangre, con todos los órganos y con el contenido gástrico é intestinal, dieron como resultado la presencia del solo *colibacillus* en cantidad tan extraordinaria, que el pequeño negro podía considerarse como un verdadero puré de *colibacillus.*

Fué, por consiguiente, de todo punto imposible constatar la presencia y proceder á aislar otras especies microbianas.

Observación VII

Manuel Dominici, italiano, de 8 años, residente en Río desde hace 4 años.

Es recogido en el Hospital, en gravísimo estado, el 17 de Junio á las 4 p. m., con una temperatura de 39.5 y con *vómito negro.*

Durante la noche cae en coma y muere á las 8 a. m. con 36.2.

AUTOPSIA

(Hecha inmediatamente después de la muerte)

Aspecto exterior del cadáver, con todos los signos propios de la fiebre amarilla.

Tórax: corazón graso; abundante derrame pericardíaco de color amarillo; catarro bronco-traqueal; *pulmones* normales.

Abdomen: estómago congestionado, con varias manchas equimóticas y pequeña cantidad de líquido oscuro: *intestinos* diarreicos; *hígado* aumentado de volumen y con color de hoja muerta; *bazo* de aspecto normal; *riñones* congestionados; *vejiga urinaria* llena de orina albuminosa.

Diagnóstico anatómico: fiebre amarilla.

Investigaciones bacteriológicas

Los varios medios nutritivos en que sembré toda clase de materiales extraídos del cadáver, dieron como resultado cultivos purísimos y extraordinariamente abundantes de *streptococcus.* Sólo los cultivos de la orina y de la bilis fueron estériles.

El contenido del estómago y del intestino dió, como siempre, cultivos casi puros de *colibacillus* con varios *streptococcus* y algún grueso *diplococcus* fluidificante.

Análisis químico de la sangre: urea = 2.50 °/oo.

Á cualquiera que no hubiese estado preparado para estas sorpresas, el resultado de la investigación bacteriológica de este caso, lo habría desorientado.

En efecto, sin el diagnóstico clínico y anatómico de fiebre amarilla, este niño se hubiera podido considerar lógicamente como muerto por una verdadera *septicemia á streptococcus;* lo mismo que el pequeño negro (Observación VI) podía diagnosticarse, por el análisis bacteriológico, como muerto por *septicemia á colibacillus.*

En ambos casos no fué posible, por consiguiente, encontrar el *bacillus icteroide.*

Observación VIII

Sadi Jarbar, de 28 años, jornalero, árabe. Reside en Río Janeiro desde tiempo indeterminado.

Es recogido en el Hospital San Sebastián, en estado gravísimo, el 17 de Junio.

No es posible obtener ningún dato anamnéstico, porque el paciente no conoce más idioma que el suyo, lo que hace suponer sea reciente su arribo al Brasil. Presenta enterorragias abundantes, la cara congestionada y lengua saburral. El 18, el análisis de la orina revela la presencia de considerable cantidad de albúmina. El 19 hay delirio con temperatura axilar de 36.7, la orina es escasa, el pulso débil.

Practico una pequeña sangría del dedo y recojo algunas gotas de sangre, que siembro en otros tantos tubos de gelosa y de caldo.

Á las 4 p. m. del mismo día, hago dos punciones exploradoras con gruesa aguja-cánula aséptica en la región hepática. Con la primera extraigo pequeña cantidad de jugo hepático, que siembro en varios tubos de gelosa; con la segunda encuentro la vesícula biliar y extraigo 10 c. c. de bilis muy fluida, que cultivo igualmente en varios medios nutritivos.

Á la mañana siguiente, después de haber permanecido durante 18 horas en la estufa á 37°, todos los caldos se habían enturbiado y los cultivos en gelosa inclinada daban el resultado siguiente: los cultivos de la sangre presentaban pocas colonias aisladas, los del jugo hepático cerca de 50 colonias por cada gota de jugo sembrado, y los de bilis una cantidad innumerable de colonias.

Todas estas colonias se hallaban en estado de absoluta pureza, y en la tarde del mismo día ya las había caracterizado como pertenecientes al *bacillus icteroide.*

Entre tanto el enfermo había comenzado á presentar una ligera mejoría, y el día 20 el delirio se había calmado tanto, que hacía suponer el principio de una mejoría definitiva.

Pero el 21 se manifestaron abundantes deposiciones diarreicas acompañadas de estado adinámico general y de anuria, que agravaron de nuevo el estado del paciente; el 22 la diarrea toma una marcha disentérica y el enfermo muere á las 9 y 30 de la mañana siguiente (23).

Con excepción del primer día de su entrada al Hospital, en que osciló entre 37.7 y 37.2, la temperatura de este enfermo fué siempre subnormal, como se ve en el siguiente cuadro:

Junio	Mañana	Tarde
17	37.7	37.2
18	36.8	36.4
19	36.2	36.3
20	36.8	36.0
21	35.4	35.8
22	35.0	35.5
23	34.9	—

AUTOPSIA

(Practicada 2 horas después de la muerte)

Aspecto exterior: color ictérico general.

Tórax: ausencia de trasudado pericardíaco; *corazón* fláxido y degenerado; la sangre, líquida aún, se coagula en las pipetas, dejando separar un suero líquido de color amarillo intenso; poca mucosidad bronco-traqueal; *pulmones* sanos.

Abdomen: estómago congestionado y casi vacío; *intestinos* con signos de enteritis descamativa aguda, conteniendo líquido mucoso amarillento; *hígado* de dimensiones normales, poco amarillo, de color de hoja muerta oscura y bastante congestionado; *vesícula biliar* llena de bilis fluida; *bazo* fláxido, pero de aspecto normal; *riñones* nefríticos; *vejiga urinaria* completamente retraída y con pocas gotas de orina turbia, floconosa y con albúmina.

Diagnóstico anatómico: fiebre amarilla.

Análisis químico de la sangre: urea = 3.65 ‰.

Investigaciones bacteriológicas

Á pesar de que en este caso el diagnóstico bacteriológico había sido ya hecho durante la vida, practiqué, como en todos los casos, una gran cantidad de cultivos del cadáver.

Los resultados fueron los siguientes: del mucus traqueal, de la sangre, hígado, bilis, bazo, riñones y orina obtuve abundantes cultivos del *bacillus icteroide,* asociado á igual cantidad de *staphilococcus aureus.*

Del mucus traqueal aislé además el *colibacillus* y una *torula.*

Los cultivos del contenido gástrico é intestinal, no dieron — como siempre — otra cosa que *colibacillus* en estado de pureza.

Es de notarse el resultado bacteriológico de infección mixta obte-

nida en la autopsia, comparado con el del examen bacteriológico practicado durante la vida, en el cual se obtuvo el *bacillus icteroide* aislado en estado de cultivo puro.

Observación IX

Antonio Ferreira, de 21 años, obrero, portugués, residente en Río Janeiro desde hace 15 días.

El 15 de Junio entra al Hospital ya en graves condiciones, presenta vómitos biliosos, fuertes dolores en varias partes del cuerpo y sobre todo en el epigastrio; mucha albúmina en la orina y lengua roja. La temperatura es de 39.1. El día siguiente la temperatura oscila entre 38.4 y 37.8, pero el vómito bilioso es cada vez más tenaz; el 19 se presentan intensas gastrorragias y hemoptisis; la temperatura oscila entre 37.0 y 37.5.

El día 20 aparecen el delirio y el primer *vómito negro:* la temperatura es de 37.5; hay anuria absoluta desde hace 24 horas.

Practico una pequeña sangría aséptica en el pulpejo del dedo y una punción exploradora en el hígado; pero todos los cultivos hechos con el material así recogido permanecen estériles.

El enfermo muere el 24 á media noche, después de varios accesos de uremia, con temperatura axilar de 36.5.

AUTOPSIA

(Efectuada 8 horas después de la muerte)

Aspecto exterior: presenta todos los caracteres propios de la fiebre amarilla.

Tórax: corazón fláxido con poco líquido pericárdico; ligero catarro bronco-traqueal; *pulmones* sanos.

Abdomen: estómago lleno de sangre negruzca, con la mucosa sumamente congestionada y tumefacta; *intestinos* congestionados; *hígado* exangüe y color de hoja muerta; *bazo* fláxido y algo tumefacto; *riñones* nefríticos; *vejiga urinaria* con abundante cantidad de orina albuminosa; *ganglios linfáticos* del mesenterio normales.

Diagnóstico anatómico: fiebre amarilla.

Análisis químico de la sangre: urea = 2.63 ‰.

Investigaciones bacteriológicas

La mayor parte de los cultivos hechos sobre medios sólidos con todas las vísceras y la sangre, quedan estériles. Sólo en los tubos de caldo lactosado sembrados con mucho material extraído de la sangre, del hígado, del bazo y de los riñones, obtengo el desarrollo de un mismo bacillus, muy pequeño, difícil de colorear, y que no consigo cultivar sobre medios sólidos, ni puedo transportar á otros medios nutritivos líquidos. Solamente de un tubo de gelosa, de entre seis sembrados con material obtenido del riñón, consigo obtener en cultivo puro el *bacillus icteroide;* los otros permanecen por completo estériles. Del mucus traqueal aislo muchísimas colonias de *staphilococcus aureus,* de *colibacillus,* y una especie *pseudo-tífica* patógena para los cobayas.

Observación X

Carolina Pires, de 39 años, portuguesa, reside hace 5 meses en Río Janeiro.

Se enferma el 15 de Junio con todos los síntomas de la fiebre amarilla, é ingresa al Hospital en gravísimo estado el día 19, presentando ya ictericia, vómito negro, fiebre (38.0) y dolores generales.

El día 20 aparece delirio y adinamia; sigue el vómito negro, y la temperatura axilar llega á 39.0. Á las 4 p. m. del mismo día extraigo sangre asépticamente del pulpejo de un dedo y siembro en varios medios nutritivos; hago lo mismo con un poco de jugo hepático obtenido merced á una punción exploradora del hígado.

Todos estos cultivos permanecen estériles.

La enferma muere en coma el 21 á las 3 a. m., después de 6 días de enfermedad, completamente anúrica y con temperatura axilar de 37.0.

AUTOPSIA

(Practicada 6 horas después de la muerte)

Aspecto exterior: con todos los caracteres propios de la fiebre amarilla.

Tórax: ligero catarro bronquial con congestión pulmonar, regular cantidad de líquido de color amarillo en el pericardio.

Abdomen: estómago congestionado, conteniendo muy poco líquido oscuro; *intestinos* normales; *hígado* hoja muerta; *bazo* pequeño, normal; *riñones* congestionados; *vejiga urinaria* contraída y casi vacía.

Diagnóstico anatómico: fiebre amarilla.

Análisis químico de la sangre: urea = 1.75 ‰.

Investigaciones bacteriológicas

Han sido más difíciles y complejas que en todas las otras autopsias, y fueron infructuosas.

La *sangre* contenía tantos microbios y de tan numerosas especies, que los cultivos en placas y en estrías daban la idea de cultivos hechos con un material en putrefacción.

Después de un largo trabajo de selección, conseguí penosamente aislar las siguientes especies: 1.º *proteus vulgaris,* 2.º *colibacillus,* 3.º *diplococcus* fluidificante no patógeno, 4.º *grueso bacillus* saprófito del intestino, 5.º *bacterio oval* séptico para los cobayas, 6.º *micrococcus* blanco, 7.º *bacillus anaerobio,* gasógeno y no patógeno.

El líquido del pericardio era estéril.

Del *hígado* aislé el bacillus número 4, hallado en la sangre; del *bazo,* el *staphilococcus aureus* y el *diplococcus* número 3 de la sangre; los *riñones* contenían en cultivo puro el *staphilococcus aureus;* las pocas gotas de orina dieron, sobre placas de gelatina, un cultivo puro de *staphilococcus aureus,* pero en los cultivos directos en caldo aparecieron bacterios de varias formas, que no me fué posible aislar y clasificar.

Los numerosos cultivos hechos con mucus traqueal, estaban en cambio formados en su mayor parte por el *proteus vulgaris,* no siendo posible aislar sino otras tres especies microbianas, esto es: 1.º el *colibacillus,* 2.º un *pseudo-tifus* patógeno para los cobayas, 3.º un *coccus* no patógeno.

En este caso, como consecuencia de múltiples infecciones mixtas, no fué posible extraer del cadáver el *bacillus icteroide.*

Este hecho es tanto más notable, por cuanto 12 horas antes de la muerte las siembras hechas con la sangre y con el jugo hepático habían quedado estériles; lo que demuestra que las infecciones mixtas invadieron el organismo y se desarrollaron con excepcional rapidez, pocas horas antes de la muerte.

Es también muy probable que ellas hayan sido su causa inmediata.

OBSERVACIÓN XI

Augusta Lehmann, de 25 años, de la Polonia Rusa, sirvienta, reside en Río Janeiro hace 11 días.

El 19 de Junio se siente atacada por todos los síntomas graves de la fiebre amarilla, y el 21, es decir, después de tres días de enfermedad, es transportada al Hospital en grave estado.

Presenta *vómito negro,* lengua hemorrágica, delirio, poca orina albuminosa y 40° de temperatura.

Después de su entrada al Hospital, la temperatura empieza á bajar sin interrupción; el 22 aparece hipo continuo é intolerable cefalalgia; del 23 al 24 anuria, pulso irregular, delirio y descenso de temperatura hasta 35° . Se manifiesta una tumefacción en la región parotídea izquierda (parotiditis aguda). El 25 la temperatura se eleva algunos instantes á 37.7, pero el estado general no varía; el 26 la temperatura vuelve á descender á 35°, y á las 4 p. m. la enferma muere en estado comatoso, después de 7 días de enfermedad.

AUTOPSIA

(Verificada en seguida después de la muerte)

Aspecto exterior: intensa coloración amarillo-limón de toda la piel.

Tórax: ligero catarro bronquial difuso; *pulmones* algo edematosos; *corazón* fláxido, con muy poco líquido en el pericardio.

Abdomen: estómago congestionado, conteniendo sangre negruzca; *intestinos* casi normales; *hígado* exangüe, compacto, de color amarillo céreo; *vesícula biliar* llena de bilis densa, filante, de color verde botella; *bazo* pequeño y normal; *riñones* con todo el aspecto de la nefritis aguda; *vejiga urinaria* contraída y con pocas gotas de orina turbia y albuminosa.

Diagnóstico anatómico: fiebre amarilla.

Análisis químico de la sangre: urea = 4.58 ‰.

Investigaciones bacteriológicas

Todos los cultivos hechos con sangre quedan estériles; solamente en un tubo de caldo lactosado, en el que había introducido casi 10 c. c. de sangre aún líquida, se desarrolla en medio del coágulo de fibrina una colonia blanquecina que, una vez estudiada, identifiqué con el *staphilococcus aureus.*

Del jugo del bazo y de los riñones consigo aislar solamente alguna colonia de *staphilococcus aureus.* La *bilis* y el *líquido del pericardio* son estériles. De la *orina* aislo el *staphilococcus aureus* y el *colibacillus.* La investigación bacteriológica del hígado presenta un interés excepcional. En efecto, los numerosos cultivos permanecieron todos estériles, con excepción de uno, obtenido gracias á haber sembrado cerca de 3 c. c. de jugo hepático. En este cultivo, el examen microscópico descubrió la existencia de un *bacillus,* cuya tendencia á presentarse con frecuencia en forma de *maza,* me hizo pensar en el *bacillus icteroide.* Veremos, en efecto, más adelante, que éste presenta á menudo, y sobre todo en los primeros pasajes en caldo, y después de pocos días de cultivo en el mismo, una tendencia marcada á tomar formas de degeneración.

Mis tentativas para obtener el transporte del microbio de la mezcla de caldo y zumo hepático á los medios comunes nutritivos, fueron inútiles.

Después de mi vuelta á Montevideo, agotada, sin ningún resultado, toda clase de artificios, inoculé todo el cultivo original, parte bajo la piel y parte en la vena auricular de un pequeño conejo, al que practiqué, además, la inoculación subcutánea de 1 c. c. de una fuerte toxina de *colibacillus,* inoculación que repetí dos días consecutivos. Al sexto día el conejo murió por infección mixta de *bacillus icteroide,* que pude aislar en cultivo puro, y de *staphilococcus aureus.*

Los cultivos preparados con zumo de la parótida extraído en el cadáver, dieron el mismo *staphilococcus* en estado de pureza. El mucus traqueal también lo contenía, unido al *colibacillus.*

En este caso se trató, pues, de una intoxicación general producida por un número relativamente pequeño de microbios específicos. Es claro que esta intoxicación facilitó una invasión secundaria de *staphilococcus;* pero, como todos los síntomas clínicos presentados por la enferma hasta su muerte, fueron los de la intoxicación amarilla, es necesario — para explicar la causa inmediata de la muerte y los resultados del examen bacterio-

lógico — aceptar una de estas dos interpretaciones: ó el microbio de la fiebre amarilla, aún en pequeña cantidad, segrega un veneno extraordinariamente activo, ó la invasión del *staphilococcus* hizo atenuar ó desaparecer las facultades vegetativas del *bacillus icteroide.*

Es también posible admitir que la muerte haya ocurrido simplemente por intoxicación urémica.

Estas hipótesis no tienen aún solución definitiva posible, por cuanto — como veremos más adelante — son igualmente admisibles.

Observación XII

Pablo Barreiro, de 27 años, español, obrero; reside en Río hace 14 meses.

Es recogido en el Hospital el 1.º de Julio, teniendo ya 10 días de enfermedad, y presentando los siguientes principales síntomas: cefalalgia, fotofobia, gastralgia, hepatalgia, albuminuria, lengua saburral, pulso irregular, vómito mucoso de color verdoso, y temperatura axilar de 38.5.

Durante su permanencia en el Hospital, el enfermo se conservó casi siempre en las mismas condiciones, hasta que murió á las 3.15 a. m. del día 3 de Julio, con temperatura axilar de 39.3, después de doce días de enfermedad.

AUTOPSIA

(Practicada á seis horas de la muerte)

Aspecto exterior: superficie cutánea con extensas sufusiones sanguíneas y anchas zonas de color amarillo intenso, especialmente en la cara, cuello y pecho.

Tórax: poco líquido en el pericardio; *corazón* fláxido conteniendo sangre muy oscura, líquida aún; *tráquea* extraordinariamente congestionada; la mucosa presenta un color rojo vinoso en todo su espesor y está cubierta por ligero exudado muco-catarral.

Abdomen: el *estómago* está congestionado y contiene pequeña can-

tidad de materia biliosa; los *intestinos* están casi normales; el *hígado* es muy resistente, compacto, exangüe, casi duro, de color amarillo intenso; la *vesícula biliar* contiene una bilis tan espesa, que con dificultad puede aspirarse con las comunes pipetas Pasteur; el *bazo* muy engrosado, friable y congestionado; los *riñones* nefríticos; la *vejiga urinaria* casi llena de orina albuminosa, algo turbia.

Diagnóstico anatómico: fiebre amarilla.

Análisis químico de la sangre: urea = 4.19 °/oo.

Investigaciones bacteriológicas

Todos los numerosos cultivos preparados con material extraído de la sangre, del hígado, de la bilis, bazo y orina fueron completamente estériles; de los riñones aislé varias colonias de un *bacillus* semejante al del cólera de las gallinas, muy patógeno para los conejos.

Sólo dos tubos de gelosa sembrados con sangre del corazón dieron lugar al desenvolvimiento de un cultivo difuso, poco abundante, constituído por *bacillus* idénticos al *icteroide*, pero cuyo desarrollo se detuvo muy pronto.

No me fué posible obtener en Río Janeiro pasajes de estos últimos cultivos, y sólo después de hallarme en Montevideo pude, con auxilio de un artificio análogo al empleado en el caso precedente, identificar con el *bacillus icteroide*, al microbio aislado con tanta dificultad.

De 22 cultivos practicados con mucus traqueal, aislé las 5 especies microbianas siguientes: 1.° *streptococcus*, 2.° *staphilococcus albus*, 3.° *bacillus mesentericus vulgatus*, 4.° *colibacillus*, 5.° *pseudo-tífico*.

Observación XIII

Manuel Rodríguez de Carvalho, de 17 años, portugués, obrero, hace veinte días llegó á Río Janeiro.

Fué asilado en el Hospital á las 9 a. m. del 1.° de Julio, con temperatura 37.7, sufriendo desde cuatro días de una enfermedad que presenta todos los síntomas de la fiebre amarilla; esto es: cefalalgia, lengua saburral, raquialgia, vómito bilioso, dolor epigástrico y albuminuria.

Á la noche la temperatura sube á 38.6; al día siguiente aparece el *vómito negro*, pero el enfermo orina todavía bastante (950 grs. en 12 horas), y presenta, durante todo el día, temperatura entre 37.3 y 37.4. El 3 de Julio se agravan todos los síntomas; empieza la anuria (100

grs. de orina en 17 horas), y aparece un sub-delirio acompañado de síntomas urémicos; mientras tanto, cesa el vómito negro.

Se practica el cateterismo vesical y no se encuentra orina en la vejiga; la temperatura se mantiene siempre entre 37.2 y 37.3.

En la mañana del día 4, el enfermo entra en delirio y presenta una hipotermia de 36°; merced á un nuevo cateterismo, se extrae una pequeña cantidad de orina muy albuminosa; pero bien pronto la respiración se hace disneica, la temperatura baja rápidamente y el paciente muere á las 5 p. m., á los 8 días de enfermedad.

AUTOPSIA

(Practicada inmediatamente después de la muerte)

Aspecto exterior: coloración general amarillo paja, con numerosas manchas rojizas distribuídas en varias partes del cuerpo.

Tórax: corazón fláxido, conteniendo sangre líquida aún; abundante exudado mucoso-hemorrágico en todo el trayecto del árbol respiratorio; tejido pulmonar sano.

Abdomen: estómago congestionado y equimótico, casi vacío; *intestinos* de aspecto normal; *hígado* exangüe, compacto, duro, de color amarillo intenso; *vesícula biliar* con muy poca bilis fluida y negruzca; *bazo* un poco engrosado, congestionado, fláxido y friable; *riñones* nefríticos; *vejiga urinaria* con cerca de 100 gramos de orina límpida, albuminosa.

Diagnóstico anatómico: fiebre amarilla.

Análisis químico de la sangre: urea = 1.26 °/oo.

Investigaciones bacteriológicas

Los cultivos practicados, como siempre, en gran número y con abundante material, dieron los siguientes resultados: de la *sangre*, pocas colonias de *colibacillus* y de *staphilococcus albus;* del *hígado*, varias colonias de *colibacillus;* de la *bilis*, nada; de la *orina*, muchas colonias de *staphilococcus aureus, albus* y de *colibacillus;* del *mucus traqueal,* una innumerable cantidad de colonias colibacilares y de un bacterio encapsulado.

La investigación del *bacillus icteroide* fué en este caso negativa.

Las consideraciones que podrían hacerse acerca de los resultados de las observaciones que acabo de relatar con todos sus detalles, serían muy numerosas, sobre todo si quisiéramos apurar la interpretación del conjunto de síntomas y de lesiones que forman el cuadro clínico y anatómico de la fiebre amarilla.

Pero dejemos este trabajo para el final de nuestras experiencias, y entre tanto fijemos los siguientes resultados que pueden considerarse como definitivamente adquiridos del punto de vista etiológico.

Por medio de procedimientos oportunos es posible aislar, en una gran parte de los cadáveres de sujetos muertos de fiebre amarilla, un microbio especial, con caracteres nuevos, bien definidos y capaces de permitir reconocerlo fácilmente entre todos los otros observados y descritos hasta ahora.

Como este resultado positivo sólo se consiguió con gran dificultad, durante estas investigaciones — en 7 casos sobre 12 (la Observación III no debe contarse, porque ya se trataba de un convaleciente) — es de suponerse que el aislamiento del microbio específico de la fiebre amarilla no debe ser posible sino cuando más en el 58 °/₀ de los casos.

En algunos casos raros el microbio específico puede aislarse también durante la vida.

Las razones por las cuales no se puede pretender aislar el microbio en todos los casos, son fáciles de comprender.

Primeramente, el *bacillus icteroide,* al principio y durante la enfermedad, se multiplica muy poco en el organismo humano, siendo suficiente (como veremos en la segunda parte) una pequeña cantidad de *toxina,* para desarrollar en el hombre el cuadro completo y gravísimo de la enfermedad.

En segundo lugar, parece que la *toxina,* ya sea por sí sola, ya sea indirectamente, por medio de las profundas lesiones que produce, sobre todo en las mucosas digestivas y en el hígado, facilita de un modo excepcional toda clase de infecciones secundarias.

Estas infecciones secundarias pueden á veces presentar la forma de verdaderas septicemias á *colibacillus,* á *streptococ-*

cus, á *staphilococcus,* etc., capaces por sí solas de matar al enfermo, como es de suponerse haya sucedido en las Observaciones VI, VII, XI y XIII.

Otras veces, pueden presentarse en asociaciones mixtas tan múltiples, que, además de perjudicar ó eliminar por completo los microbios específicos — los cuales, como veremos en otro lugar, son muy sensibles á los fenómenos de antagonismo — pueden por último, y sobre todo en el período agónico, transformar al enfermo en un verdadero cultivo de casi todas las especies microbianas del intestino, como quizás ocurrió en las Observaciones I y X.

De todos modos, perturban siempre, aún en los casos bacteriológicamente más puros, la investigación del microbio específico, puesto que este último no se encuentra nunca solo en el organismo.

Hemos visto, en efecto, que también en las Observaciones II, VIII, IX y XI — que pueden considerarse como las más puras, desde el punto de vista bacteriológico — se constató siempre, en el parénquima renal, la presencia del *colibacillus,* del *staphilococcus aureus* y de otros microbios indeterminados.

Esta tendencia á las invasiones microbianas secundarias en el curso de la intoxicación amarilla, es tan extraordinariamente pronunciada, que, como veremos más adelante, puede observarse también, no sólo en las afecciones experimentales de los animales, sino también en las intoxicaciones experimentales producidas en el hombre.

Debe en consecuencia admitirse que, á excepción de algunos raros casos, como los de las Observaciones II, VIII, en los cuales el *bacillus icteroide* fué hallado en el organismo en cantidad considerable y en estado de pureza relativa, la investigación y aislamiento del microbio de la fiebre amarilla presenta en general dificultades técnicas mucho mayores que las que estamos acostumbrados á encontrar en las otras enfermedades agudas.

Por último, resultando de nuestras experiencias que el *bacillus icteroide* se encuentra en la sangre y en el interior de los tejidos, y que nunca se consigue descubrirlo en el conte-

nido gastro-intestinal, debe aceptarse — al contrario de lo que hoy se supone — que el virus de la fiebre amarilla no reside en el tubo digestivo, y por consiguiente su veneno, en vez de absorberse al través de las paredes intestinales, debe ser elaborado en el interior de los tejidos y en la sangre misma.

En otros términos: el proceso infeccioso y tóxico de la fiebre amarilla presentaría muchas analogías con el que he señalado en la fiebre tifoidea (1).

Ulteriores investigaciones experimentales demostrarán más adelante que la importante y característica fenomenología intestinal de la fiebre amarilla es debida exclusivamente á las propiedades eméticas, necrosantes y hemorragíparas de la toxina específica que se elabora y circula en el organismo.

---

(1) Como mediante el empleo de la gelatina Elsner, recientemente introducida en la práctica, sobre todo para la investigación del *bacillus* de Eberth en las deyecciones de los tifoideos, se ha conseguido encontrar á éste allí, con más frecuencia que antes, varios autores, y sobre todo *Funck* (*La sérothérapie de la fièvre typhoïde.* — Bruxelles, 1895), se han creído autorizados para restablecer el antiguo asiento intestinal del virus tífico, contra el cual se habían pronunciado los resultados de mis precedentes investigaciones.

Mas yo no creo bastante justificadas semejantes conclusiones: 1.° porque se ha visto que ni aún el procedimiento de Elsner da resultados positivos constantes; 2.° porque el hecho mismo de encontrar en el intestino el bacillus de Eberth, de un modo inconstante y en número muy escaso, no puede considerarse como una prueba en favor de su *habitat* intestinal; 3.° porque hoy es ya sabido que en todas las enfermedades infecciosas, generales y agudas, los microbios específicos pueden eliminarse con mucha facilidad del organismo, no solamente al través del riñón, sino también á través de todas las mucosas en general, y especialmente la intestinal, sobre todo cuando esta última — como sucede precisamente en la fiebre tifoidea — está profundamente alterada por efecto de la toxina específica que circula en el organismo.

III

Investigación del microbio de la fiebre amarilla en los tejidos, y descripción de las principales lesiones anatómicas producidas en el hombre por la infección amarilla.

Claramente resulta de lo expuesto hasta aquí, que la investigación del *bacillus icteroide* en los tejidos tiene que ser bastante difícil, y que las conclusiones de los que han descrito las lesiones histológicas encontradas en los órganos, considerándolas como debidas á la acción del agente específico de la fiebre amarilla, sólo deben ser acogidas con muchas reservas.

En la mayor parte de los casos, esta enfermedad termina con una infección general mixta, á veces gravísima, durante la cual desempeñan un papel indudablemente muy activo algunos microbios patógenos, que ya conocemos como capaces de provocar graves alteraciones histológicas en los órganos por ellos atacados. Es, pues, evidente que practicar el examen histológico de los tejidos, sin conocer el resultado bacteriológico de la autopsia, es exponerse á describir como específicas, lesiones debidas á venenos microbianos de distinta naturaleza.

La misma objeción puede hacerse en cuanto se refiere á la investigación de los microbios específicos en los tejidos.

Esto nos explica perfectamente los resultados discordes ó negativos obtenidos por los observadores que se atuvieron á la investigación de los microbios en los tejidos, llamando sucesivamente la atención sobre varias formas bacterianas (strepto-

coccus, diplococcus, streptobacillus de Lacerda y Babes, de Sternberg, etc.), que muy probablemente nunca han tenido relación específica con la fiebre amarilla.

Por consiguiente, todas estas investigaciones deben hacerse de nuevo y, sobre todo, debe seguirse un procedimiento que, al mismo tiempo que nos asegure un resultado positivo, nos garanta contra todo error posible.

Este procedimiento consiste en la elección de aquellos órganos que al examen bacteriológico de la autopsia resultaron contener el *bacillus icteroide* en cierta cantidad y en estado de pureza absoluta.

Cômo se deduce de nuestras observaciones, los casos de fiebre amarilla que presentan tales requisitos, están lejos de ser frecuentes. Yo he tenido un solo caso (Observación II), y debo á una afortunada previsión el poseer todos los órganos recogidos en la autopsia, conservados en condiciones de permitir toda clase de investigaciones.

En este caso encontré el *bacillus icteroide* en estado de absoluta pureza y en gran cantidad. Solamente del riñón aislé, como he dicho, alguna rara colonia de *colibacillus*.

Los órganos de este cadáver, fijados primero por medio del sublimado y después endurecidos en alcohol, han sido los que me sirvieron para investigar la presencia de los microbios en los tejidos.

Para el estudio de las lesiones histológicas me he valido de órganos convenientemente fijados por el líquido de Flemming.

En la reseña sumaria que va á seguir de las delicadas alteraciones anatómicas halladas por mí en la fiebre amarilla, no pretendo, naturalmente, asumir la tarea de hacer la histo-patología de esta enfermedad, sino tan sólo poner bien en relieve la naturaleza y asiento anatómico de sus lesiones más estrictamente específicas, con el fin de que esos conocimientos puedan ser utilizados en la interpretación de los resultados que señalaré en estudios ulteriores, acerca de la patología comparada del *bacillus icteroide*.

Los órganos que en la fiebre amarilla prestan un contingente más interesante, son: por orden de gravedad y de importancia,

en primer lugar el hígado, después los riñones, en seguida el tubo digestivo, y en último término el bazo.

Comencemos por el estudio del *hígado.*

En casi todos los casos, el hígado tiene un volumen casi normal y conserva su consistencia habitual; excepcionalmente esta consistencia parece algo aumentada.

Con relación al color, presenta un tinte amarillento comparable al del cuero nuevo, del café con leche, de la goma-guta, de hoja muerta, etc. En algunos casos este color no es uniforme, y alterna con manchas lívidas, rojizas ó apizarradas, sobre todo cuando existe congestión venosa.

Al corte da siempre poca cantidad de sangre, procedente de los gruesos vasos, porque el tejido está anemiado, pálido y casi desecado, como si hubiera sufrido un principio de cocción.

Un examen atento descubre inmediatamente una éxtasis sanguínea de los vasos perilobulares, que á primera vista recuerda la lesión designada con el nombre de *hígado nuez moscada.* No obstante, existe una diferencia capital que separa estos dos estados: en el hígado nuez moscada, la éxtasis existe en las venas centrales, mientras que en el hígado amarillo, la parte amarillenta corresponde al centro del lóbulo y la congestión á las venas periféricas.

Esto constituye la lesión característica de la hepatitis infecciosa, que Hanot ha designado con la feliz expresión de *hígado nuez moscada intervertido.*

Desde el punto de vista histológico, son interesantes las lesiones vasculares y celulares.

Con relación á los *vasos,* se observa en los cortes que las venas perilobulares pertenecientes al sistema de la vena porta, se presentan distendidas y llenas de sangre, en la cual se encuentran masas irregulares de pigmento dispuesto en pequeños blocs. Á menudo la *vena porta* presenta el endotelio espesado, hinchado, descamado ó lleno de granulaciones grasas: la pared también está espesada, contiene núcleos embrionarios y en su espesor se observa casi siempre un avanzado grado de infiltración leucocitaria.

Los *capilares* presentan frecuentes y profundas alteraciones distribuídas irregularmente en el tejido hepático.

Ordinariamente su revestimiento endotelial está hinchado, turbio, y muchas células endoteliales no dejan ya colorear su núcleo, lo que indica un estado de necrosis de la célula misma.

En efecto, en algunos puntos los capilares encuéntranse muy dilatados y llenos de sangre, en otros aparecen desgarrados, de donde resulta la ruptura de las paredes y las consecutivas infiltraciones hemorrágicas bastante extensas y frecuentes, que ocupan parte del lóbulo ó lóbulos enteros. En otras partes, sin embargo, es fácil notar la isquenia y la casi desaparición de las trabéculas capilares, debido á la exagerada compresión de los elementos celulares y á la dislocación más ó menos acentuada de la trama hepática, que se verifica en zonas bastante extendidas del parénquima.

Pero, son las lesiones de las células hepáticas las que deben interesarnos más de cerca, puesto que constituyen el hecho anatómico é histológico más saliente de la intoxicación amarilla.

En efecto, si se exceptúa el envenenamiento por el fósforo, no existe ninguna enfermedad, sino la fiebre amarilla, en que los elementos del *hígado sano* puedan destruirse con tanta rapidez.

Lo que llama sobre todo la atención, cuando se observa con pequeño aumento el corte de un hígado enfermo, coloreado con hematoxilina ó carmín, es la existencia de múltiples focos de infiltración leucocitaria y de numerosas zonas en las que la *trama hepática* característica ha desaparecido y el elemento del órgano está deformado, comprimido, desmenuzado ó degenerado: convertido en una masa informe de residuos nucleares, glóbulos sanguíneos, pigmento y granulaciones grasas.

Con relación al *protoplasma,* el hecho común ligado siempre como fenómeno específico al examen histológico en la fiebre amarilla, es su *degeneración grasa.*

Esta degeneración puede ser más ó menos intensa en distintas partes del parénquima, pero interesa al mismo tiempo y casi sin excepción, á todos los elementos celulares. Es muy fácil de ver en el tejido fresco, sobre todo si se tiene cuidado de dislacerar la pulpa hepática en cloruro sódico con adición de una gota de solución ósmica.

En los cortes fijados con el líquido de Flemming, aparece en muchos casos y en algunos puntos, tan intensa, que ya no es posible distinguir la estructura del tejido que se observa.

En efecto, las gotitas de sustancia grasa coloreadas por el ácido ósmico, no siempre quedan contenidas en el interior del protoplasma celular; muy á menudo — quizá por efecto de la destrucción del mismo — quedan libres y se distribuyen irregularmente entre los otros elementos como miriada de granulaciones negras, ó bien se funden en una y constituyen grandes manchas negras, á veces tan grandes como la misma célula hepática.

Cuando el proceso de degeneración ha adquirido tanta intensidad, el estudio de las delicadas alteraciones histológicas del tejido hepático es completamente impracticable en las preparaciones fijadas con ácido ósmico; es mucho más conveniente entonces practicar cortes en fragmentos fijados por medio del sublimado y endurecidos por el alcohol.

Estos cortes se colorean con hematoxilina, ó mejor aún, con el método *Martinotti*, por medio de la safranina, ácido crómico (Véase *Zeitschr. fur Wiss. Mikrosk.* — 1887. Bd IV, pág. 326).

En este caso la primera inspección del preparado descubre inmediatamente, además de las alteraciones de conjunto más arriba descritas, las delicadas lesiones histológicas inherentes á la célula hepática.

Ésta aparece siempre con protoplasma turbio, granuloso, tumefacto, salpicado á menudo de pigmento amarillo oscuro ó amarillo verdoso, y de un aspecto trabecular más ó menos desarrollado, que representa el grado de metamorfosis adiposa que ha sufrido la célula.

En muchos puntos la *trama hepática* está casi disociada y se encuentra un cierto número de células atrofiadas.

En cuanto á los *núcleos*, puede decirse de un modo general, que se colorean menos que de ordinario, y en algunos casos, aún siendo perfecta y netamente visibles sus contornos, no se colorean absolutamente.

Sería difícil establecer hasta qué punto estos hechos puedan referirse á necrosis celular, ó si deben considerarse como

expresión de una necrosis hialina ó de coagulación que hubiesen sufrido los elementos así alterados.

De todos modos, es indudable que esta alteración nuclear común significa que la vitalidad de los elementos hepáticos está seriamente comprometida.

Nunca he encontrado núcleos con modificaciones cromáticas que pudieran ser interpretados como fenómenos de karyokinesis.

Es verdad que muy á menudo se encuentran núcleos algo más voluminosos que los otros, de contenido claro y homogéneo, con muy poca cromatina, de ordinario rechazada hacia la periferia; pero evidentemente la modificación sufrida por estos núcleos débese más bien atribuir á un fenómeno de *hidrops celular*, que á indicios de mitosis.

Además de estos núcleos hidrópicos, se encuentran en gran cantidad otros mucho más pequeños que lo normal, casi atrofiados, sobre cuya significación morfológica es difícil pronunciarse.

Pasemos ahora á los microbios.

He dicho ya cuáles son las condiciones en que su investigación puede dar un resultado, no sólo atendible, sino positivo.

Agrego también positivo, porque aún en los casos en que los cultivos demuestran la ausencia de infecciones secundarias, el *bacillus icteroide* se encuentra tan poco difundido, que su investigación se hace muy difícil.

Esto también lo comprueba el resultado de la investigación bacteriológica del cadáver, que á veces es completamente negativo.

Prevenido ya contra esta eventualidad, que había sido ya señalada por varios autores, y sobre todo por Gibier, Sternberg, etc., desde las primeras autopsias de orientación, no solamente empecé á fijar y conservar todos los órganos en diferentes mezclas, sino que ponía además, durante 12 horas, en la estufa á 37°, grandes fragmentos de tejido hepático, previamente lavados al exterior con sublimado y suspendidos por un hilo en cámara húmeda, para favorecer así artificialmente

la multiplicación de los pocos microbios que pudieran hallarse en pequeña cantidad, y poder después aislarlos ó rebuscarlos con éxito por medio del microscopio.

Esta medida de previsión ha sido para mí — como veremos más tarde — de gran utilidad, puesto que me ha permitido establecer exactamente el asiento y la vía de difusión del *bacillus icteroide,* sobre todo en el parénquima hepático.

En este órgano los microbios no se encuentran en gran cantidad: es necesario examinar atentamente y por mucho tiempo, las preparaciones coloreadas por el método de *Nicolle,* para poder descubrirlos en alguna asa capilar, en las que se observan siempre reunidos en pequeños grupos más ó menos numerosos.

Esta tendencia á reunirse en grupos en el interior de los vasos, es una disposición muy característica del *bacillus icteroide* en todas sus localizaciones en el parénquima de los órganos.

Además del hígado, la veremos repetirse en el bazo, riñones, etc., donde muy excepcionalmente se pueden encontrar microbios aislados.

Esto hace suponer desde ya, que la fiebre amarilla sea una infección de la sangre, y que la multiplicación de los microbios específicos se efectúe con preferencia en el interior de los capilares, sobre todo en relación con sus asas ó bifurcaciones, en las que los microbios podrían más fácilmente detenerse y proliferar.

Se tiene una demostración muy clara de esta suposición, examinando los cortes de hígado que han permanecido en la estufa á 37° durante doce horas.

Es evidente que en estos fragmentos de hígado se produce *post mortem* una abundante proliferación de microbios específicos; lo mismo que sucede en la pulpa esplénica de los tifoideos cuando se la somete al mismo tratamiento, con el fin de hacer más fácil la investigación y aislamiento del bacillus de Eberth.

Examinando los cortes de este hígado con pequeño aumento, se observan distritos capilares completamente llenos de microbios allí acumulados y amontonados de tal manera, que en su conjunto reproducen la forma de los capilares, ó más propia-

mente de sus bifurcaciones, en relación con las cuales parece se efectuara — como ya he dicho — la colonización y proliferación metastásica de los gérmenes.

El aspecto que toman en los tejidos es idéntico al que se observa en los cultivos, sólo que su protoplasma no siempre se encuentra intensa y uniformemente coloreado de azul, sino que presenta una estructura un poco granulosa y transparente, sobre todo en las partes más centrales.

Ni aún en el hígado que ha permanecido en la estufa se encuentran microbios aislados entre las células, lejos de los pequeños focos endovasales.

Esto confirma cada vez más, la idea emitida; esto es, que la profunda esteatosis difundida por todas las células hepáticas, debe atribuirse á la acción directa, no de los microbios, sino de un poderoso veneno por ellos elaborado.

Después del hígado, el órgano que en la fiebre amarilla aparece con más frecuencia y más gravemente atacado, es, sin duda alguna, el *riñón*.

Los datos microscópicos son siempre los de la nefritis aguda parenquimatosa ó hemorrágica.

Histológicamente participan de la afección, tanto los glomérulos, como el epitelio de los canalículos uriníferos.

Las alteraciones del glomérulo no difieren de las que se suelen encontrar en la glomérulo-nefritis infecciosa común. El espacio capsular contiene casi siempre una secreción albuminosa, coagulada y de aspecto granuloso, conteniendo á menudo elementos epiteliales necrosados, masas esféricas hialinas y glóbulos sanguíneos. Los vasos de los glomérulos están extraordinariamente hiperemiados y presentan á menudo el endotelio con degeneración grasa ó descamado.

En cuanto al epitelio de los canalículos urinarios, se observa en varios puntos completamente turbio, granuloso, degenerado ó necrosado; los núcleos, de aspecto normal, han perdido casi siempre la propiedad de colorearse; la luz de los canalículos contiene frecuentemente masas coaguladas y cilindros hialinos y granulosos formados por albúmina trasudada.

El tejido conectivo intertubular participa poco del proceso,

pero á veces se encuentra edematoso ó infiltrado; los vasos sanguíneos interlobulares aparecen en general hiperémicos y en algunos puntos dilatados, desgarrados y á veces completamente rotos.

La investigación de los microbios en los cortes de riñón presenta dificultades casi iguales á las que ya hemos señalado al tratar del hígado, y que son debidas al escaso número en que se encuentran.

No obstante, se consigue siempre encontrar algún pequeño foco metastásico que corresponde á una sección vasal; porque, tanto por su número, como por su disposición, estos pequeños acúmulos de bacillus son perfectamente idénticos á los descritos en el parénquima hepático. Por esta razón creo inútil insistir más sobre ellos.

Otro órgano, el *bazo,* que en general ocupa un lugar importante entre las lesiones anatómicas que acompañan á casi todas las enfermedades infectivas, aparece, en cambio, poco comprometido en la fiebre amarilla. Por lo general tiene su volumen normal. Pocas veces está algo engrosado. Con todo, esto no constituye un hecho excepcional — como algunos pretenden, — puesto que, en otra enfermedad excepcionalmente infecciosa y tóxica, al mismo tiempo — la difteria, — el bazo conserva su volumen normal ó está poco aumentado.

Además, como puede notarse por la comparación del protocolo de las autopsias y sus respectivos resultados bacteriológicos, no existe ninguna relación entre el ligero aumento de volumen del órgano — que á veces se aprecia sin duda alguna — y la eventual coexistencia de una infección mixta, á la cual podría *á priori* atribuirse el aumento observado.

En la Observación II, en la cual el bazo dió cultivos de *bacillus icteroide* en estado de pureza, el órgano estaba un poco engrosado, y, por otra parte, la anamnesis de la víctima excluía todo antecedente de paludismo.

En otros casos (Observaciones I, VII, VIII, X, XI), á pesar de tratarse de infecciones mixtas ó de verdaderas septicemias á *streptococcus,* el bazo se halló completamente normal.

Esta circunstancia, que á primera vista parece muy extraña,

es debida quizá al hecho de que la toxina amarilla sola no es capaz de producir una notable tumefacción del bazo, y que ésta sólo tiene lugar cuando el bacillus específico, multiplicándose y difundiéndose por todas partes, se localiza en este órgano en gran cantidad.

Por lo que respecta al extraño resultado negativo del examen bacteriológico del tumor del bazo en los casos que terminan con infecciones mixtas ó con septicemias secundarias, puede explicarse fácilmente teniendo en cuenta que estas infecciones secundarias aparecen siempre á última hora y tienen una marcha tan fulminante, que no dan tiempo á ningún fenómeno notable de reacción de parte del sistema linfático.

Del estudio de varios bazos examinados por mí, resulta que la ligera tumefacción que á veces se observa en este órgano, es debida, en su mayor parte, á abundantes hemorragias parenquimatosas de la pulpa esplénica.

Estas hemorragias intersticiales son muy frecuentes en la fiebre amarilla, y asumen comunmente tales proporciones, que no permiten distinguir ni las lagunas venosas de la pulpa, ni el fino retículo adenoide, y sólo aparecen al examen microscópico largas zonas hemorrágicas, en medio de las cuales se encuentran masas amorfas, hialinas, que parecen productos de coagulación.

En cuanto á los vasos, se nota á menudo una infiltración embrionaria muy marcada al rededor de las vainas arteriales y en las vainas linfáticas que acompañan á las ramas arteriales de mayor calibre.

En los elementos de la pulpa no he observado ni formas de karyokinesis, ni alteraciones nucleares que merezcan fijar la atención.

Los folículos, cuando se consigue encontrarlos en el parénquima, no parecen alterados.

La coloración de los microbios específicos en el tejido esplénico, sólo la practiqué con el bazo perteneciente al caso número 2, que resultó contener el *bacillus icteroide* en estado de absoluta pureza.

Su investigación no es difícil; se encuentra, en efecto, rela-

tivamente muy difundido, sobre todo en relación con los focos hemorrágicos del parénquima, donde se observan, como en los otros órganos, reunidos en grupitos más ó menos numerosos, con los mismos caracteres antes señalados.

Las lesiones del tubo gastro-intestinal merecerían especial atención desde el punto de vista histológico, puesto que es en este órgano que se ha fijado, con preferencia, la atención de todos. Nosotros nos ocuparemos brevemente, y tan sólo en cuanto pueda sernos útil para la ulterior interpretación de las funciones tóxicas del veneno amarillo.

En efecto, después de haber excluído, como resultado de nuestras investigaciones bacteriológicas, el concepto dominante relativo á la *sede gástrica* (1) del virus amarillígeno, y después de haber señalado su presencia en la sangre circulante, es natural que deba buscarse la causa de las graves lesiones de la mucosa digestiva, que dan un carácter sintomatológico y anatómico tan saliente á la fiebre amarilla, en un proceso inflamatorio hematógeno.

No en todos los casos de fiebre amarilla se encuentra el estómago gravemente alterado. Como lo hemos ya establecido con respecto al mecanismo de otra enfermedad específica con lesiones intestinales — la fiebre tifoidea (2) — éstas pueden manifestarse con mayor ó menor intensidad, según la sensibilidad en la mucosa á la acción del veneno específico.

Muy probablemente, lo mismo sucede en la fiebre amarilla; puesto que al lado de casos en los cuales el tubo digestivo está profundamente alterado, se observan otros en los que, clínica y anatómicamente, los síntomas morbosos gastro-intestinales tienen un carácter benigno: tanto, que á veces el mismo *vómito negro* (gastrorragia), que puede considerarse como un síntoma característico de la enfermedad, puede faltar por completo

(1) Esta opinión, que parece ser aceptada casi sin discusión entre los autores más serios que se han ocupado de la fiebre amarilla (Sternberg, Gibier, Jones, etc.), ha sido también sostenida últimamente por un distinguido sabio brasilero, el doctor J. B. de Lacerda (Véase *Os rins na febre amarella.* — Río de Janeiro, 1896; pág. 6).

(2) Véase: *Études sur la fièvre typhoïde expérimentale. 3.e Mémoire. — Ann. de l'Institut Pasteur*, 1894; pág. 353.

y ser sustituído, durante todo el curso de ella, por un vómito bilioso análogo al que se observa en las vulgares fiebres palustres biliosas.

Las principales alteraciones histológicas observadas en los cortes de estómagos profundamente alterados, como, por ejemplo, los de las Observaciones I y V, son las siguientes: la superficie de la mucosa está recubierta de una abundante capa formada por mucus, células epiteliales en degeneración mucosa, glóbulos rojos y leucocitos.

El epitelium cilíndrico en los conductos excretores de las glándulas gástricas, falta ó está atacado en diferentes grados, más ó menos profundamente, por la metamorfosis mucosa. El epitelio de las glándulas pépsicas presenta alteraciones que interesan con más frecuencia las células adelomorfas, las cuales aparecen hinchadas, turbias, degeneradas ó convertidas en masas granulosas; mientras que las células de revestimiento (delomorfas) parecen más resistentes y conservan su aspecto y posición normales.

Pero las que dominan sobre todo en el examen histológico de la mucosa gástrica, son las lesiones vasculares. En efecto, tanto los vasos de la túnica submucosa, como la red capilar que envuelve todas las glándulas gástricas, se presentan extraordinariamente sobrecargados de sangre, y el tejido conectivo inter-glandular es asiento de infiltraciones linfáticas y de numerosas y abundantes hemorragias.

En estos últimos tiempos, algún autor ha señalado la existencia de una grave degeneración grasa de los vasos capilares del estómago, tratando de explicar por medio de ella su fácil rotura y, por consiguiente, la frecuencia de las gastrorragias en los últimos períodos de la fiebre amarilla.

Aunque mis observaciones se fundan en un número limitado de casos, no obstante debo declarar que esta degeneración grasa de los capilares del estómago no es un hecho constante ni una alteración tan grave como se pretende hacer creer.

Por otra parte, no es difícil comprender la génesis de las hemorragias capilares que caracterizan el cuadro morboso de la fiebre amarilla, desde el momento que las funciones hemorra-

gíparas, ya descubiertas y estudiadas respecto de ciertos microbios (colibacillus, streptococcus, piocyánico, tífico, etc.), bastan por sí solas para darnos una explicación completa.

Veremos también, á su tiempo, que la propiedad de determinar congestiones vasculares y hemorragias, es un carácter muy saliente del veneno elaborado por el *bacillus icteroide.*

Además, como el último período de la fiebre amarilla está casi constantemente caracterizado por la invasión del organismo por el *colibacillus,* por los *streptococcus,* etc., es evidente que las funciones de todos estos microbios, eminentemente hemorragíparos, deben á menudo acumularse, determinando, según la actividad de las toxinas y según la resistencia de los órganos, manifestaciones hemorrágicas de varia intensidad por parte de las mucosas en general y de la gástrica en particular.

IV

Morfología y biología del "bacillus icteroide" y su diagnóstico bacteriológico rápido

El microbio que hemos denominado *bacillus icteroide,* se cultiva fácilmente en todos los medios nutritivos artificiales líquidos y sólidos usados comunmente; en ellos se presenta con el aspecto de un bastoncillo de extremidades redondeadas, generalmente reunido á pares, de 2 á 4 micromilímetros de largo, y, en general, dos veces más largo que ancho.

Sin embargo, esta forma no es constante y, como la de muchos otros microbios, varía incesantemente dentro de ciertos límites, según el medio nutritivo, la edad, etc., como describiremos en seguida.

Se colorea fácilmente con todos los líquidos usuales, pero no resiste al método de Gram.

La coloración de las pestañas obtenida por el método de *Nicolle - Morax,* demuestra la existencia de múltiples (4-8) y largas pestañas vibrátiles.

Con el método de *Legal - Weyl* (Fe_2 Cy_{10} $(NO)_2$ Na_4 $+ KOH + C_2H_4O_2$) no se obtiene la reacción *azul* del indol; con el método *Kitasato* ($NO_2K + SO_4H_2$) se la obtiene débilmente.

Es un anaerobio facultativo.

CULTIVOS EN MEDIOS SÓLIDOS

1.º — CULTIVOS EN PLACAS DE GELATINA

El desenvolvimiento en colonias separadas, en la superficie y en el espesor de las placas, constituye para el *bacillus icteroide* un elemento diagnóstico de gran valor.

Manteniendo los cultivos á la temperatura de cerca 20ºC., ya después de 24 horas se ven con pequeño aumento (60 diám.), colonias puntiformes, con el aspecto y dimensiones de los leucocitos de la sangre. Son, en efecto, redondeadas, transparentes, incoloras, sin núcleo, finamente granuladas y brillantes.

No fluidifican nunca la gelatina.

Cuando las colonias desarrolladas en una placa son muy abundantes y muy cercanas unas de otras, se detiene muy pronto y para siempre su crecimiento; pero su aspecto no se conserva siempre idéntico, pues á los 6-7 días, cuando más, empiezan á perder su transparencia y concluyen por transformarse en puntos negros completamente impenetrables á la luz.

Si, al contrario, las colonias se desenvuelven en superficie y algo distantes entre sí, siguen aumentando de volumen y se hacen esféricas, conservando su aspecto brillante y granuloso; además, poco á poco empieza á aparecer casi siempre un núcleo más ó menos oscuro, más ó menos grande, central ó excéntrico, pero siempre rodeado de un pequeño círculo claro, del cual parten las finas granulaciones que se difunden hacia la periferia, donde se pierden regularmente en una delicada y elegante degradación.

Llegada á este punto, lo que sucede hacia el 5.º día, la colonia presenta un aspecto tan característico, que una vez conocido, difícilmente podría olvidarse.

Observadas á simple vista, las colonias aparecen á la luz directa, de aspecto lácteo, sin irisaciones, y á la luz reflejada, de color gris céreo.

Por transparencia se distingue además muy bien, y á simple vista, el pequeño núcleo, á causa de su perfecta opacidad.

Muchas veces las colonias no son regularmente esféricas, sino aplastadas por un lado, donde se forma una especie de hilo que aloja al núcleo. En este caso la colonia toma un aspecto reniforme bastante característico.

En casos excepcionales la superficie de la colonia no está formada por las finísimas, uniformes y brillantes granulaciones que acabamos de describir, sino que toma una elegante disposición radiada y ondulada, que, partiendo del centro, concluye por perderse en la periferia en una ligera é imperceptible degradación.

El aspecto de estas colonias radiolares atípicas es tan diferente del ordinario antes descrito, que es necesario conocerlo bien para evitar posibles y fáciles errores de diagnóstico.

El pequeño centro germinativo opaco, que vulgarmente llamamos núcleo de la colonia, no siempre conserva la forma esférica; con bastante frecuencia, y sobre todo cuando está situado en la concavidad del hilo de una colonia reniforme, toma la forma de una esfera situada en medio de un círculo (como la conocida figura de Saturno), y resulta entonces muy visible por su aspecto negro. Raramente pueden encontrarse colonias sin núcleo ó con dos núcleos excéntricos.

Cualquiera que sea, sin embargo, la figura que tome la colonia durante su desarrollo, por regla general no permanece mucho tiempo con el aspecto indicado.

A medida que envejece, comenzando del 5.° ó 6.° día, empieza poco á poco á oscurecerse, el aspecto brillante de su granulación se hace opaco con reflejos negruzcos, y concluye por ponerse completamente negro, presentando sólo una pequeña zona redonda y transparente, en medio de la cual se dibuja todavía con perfecta limpidez el pequeño núcleo.

Cuando se trata de colonias desarrolladas en el espesor de la gelatina, en vez de en la superficie, la opacidad sobreviene mucho más pronto, y observadas con pequeños aumentos, aparecen entonces como pequeñas esferas de color negro, cual si fueran gotas de tinta.

Esta especial tendencia de las colonias hacia la opacidad más ó menos completa, constituye otro elemento diagnóstico de valor para distinguir, en los cultivos en gelatina, el *bacillus icteroide* de los otros microbios que eventualmente pudieran haberse desarrollado á su lado.

Es necesario tener presente que las colonias que se desarrollan en gelatina no presentan siempre el tipo morfológico fundamental ya descrito.

En placas de gelatina, en las cuales, ó por efecto de temperaturas disgenésicas, ó por otras causas desconocidas é inherentes al microbio, el desenvolvimiento de las colonias se hacía con mucha lentitud y dificultad, he observado con alguna frecuencia la aparición desde el principio de colonias con figuras completamente atípicas, tanto por el aspecto como por el color.

Estas formas atípicas aparecen á veces también en cultivos que se han desarrollado normalmente ó cuando empiezan á envejecer (1). En este último caso, después de 8-10-20 días de vida, las colonias empiezan á sufrir una lenta y gradual transformación; adquieren un tinte amarillento ú oscuro; disponen su superficie en capas ó anillos concéntricos, presentan dibujos en forma de estrella, de almendra, de losange, de césped; aparecen dibujos abigarrados, núcleos estrellados; en fin, dan lugar á una serie tan fantástica y variada de figuras, que no es posible describirlas detalladamente.

No hay duda que este extraño polimorfismo podría ser — para los poco prácticos — causa de fáciles confusiones, especialmente con colonias pertenecientes á las numerosas variedades de *colibacillus*, siempre que el estudio de los cultivos para aislar el *bacillus icteroide* no se hubiese hecho en las condiciones

(1) Creo conveniente hacer notar ahora que la anterior descripción morfológica data de mis primeras investigaciones.

Mis estudios posteriores me han demostrado que la vida de laboratorio produce cambios, á veces muy profundos, en la fisonomía original de las *colonias icteroides* desarrolladas sobre la gelatina.

Investigaciones ulteriores podrán fijar hasta dónde se puede llegar con este *pleomorfismo de laboratorio*.

Mientras tanto, creo que la descripción morfológica antedicha es rigurosamente aplicable sólo á los microbios recientemente aislados del enfermo de fiebre amarilla ó de su cadáver.

más propicias para su desarrollo normal. Por esta razón, en una serie completa de investigaciones comparativas, he querido fijar algunos caracteres diferenciales susceptibles de ser utilizados rápidamente.

Los resultados de estas investigaciones fueron los siguientes:

1.° El desarrollo del *bacillus icteroide* sobre placas de gelatina debe obtenerse, posiblemente, á una temperatura no inferior á 18°-20° C.

2.° Cuando, por una causa cualquiera, el desarrollo regular de las colonias en la superficie de la gelatina no empiece á efectuarse á las 36-48 horas, debe sospecharse la eventualidad de un desarrollo atípico tardío.

3.° Este pleomorfismo tardío del *bacillus icteroide* debe considerarse como la consecuencia de un fenómeno de naturaleza involutiva, que se distingue del pleomorfismo que presentan las colonias del *colibacillus,* en que este último lo presenta constantemente y en condiciones normales.

En efecto, he seguido al través de varias generaciones desarrolladas sucesivamente en la superficie de la gelatina, cinco variedades de *colibacillus* aisladas del estómago y de los intestinos de sujetos muertos de fiebre amarilla. Al principio estas cinco variedades presentan figuras algo distintas unas de otras; pero ya desde las primeras generaciones reproducidas en la gelatina, comienzan á aparecer colonias pleomorfas completamente distintas de los tipos primitivos. Estas nuevas colonias transportadas en otras placas se reproducen, dando en cada nueva generación figuras siempre nuevas, siempre extrañas y completamente distintas, no sólo del tipo primitivo, sino también de las desarrolladas al mismo tiempo ó sucesivamente en la placa común.

4.° Un carácter diferencial invariable que puede servir precoz y constantemente para distinguir las colonias en gelatina del *bacillus icteroide* de las del *colibacillus,* lo constituye el tono de luz de las mismas. El tono de luz que emana de las colonias del *bacillus icteroide* es siempre blanco; así es que, del aspecto de leucocitos y de gruesas células de protoplasma finamente granuloso que presentan al principio, se hacen poco á poco completamente opacas, pero sin presentar nunca el co-

lor castaño oscuro más ó menos intenso que caracteriza *indistintamente* á todas las colonias colibacilares desde el primer período de su desenvolvimiento.

Este carácter diferencial está naturalmente destinado á servir para los casos en los cuales deba hacerse un diagnóstico precoz en las primeras 36 - 48 horas; porque si se espera que las colonias del *bacillus icteroide* hayan llegado á su completo desarrollo tomando el aspecto esférico ó reniforme, nucleado, incoloro ó negruzco y finamente granulado que hemos descrito, entonces ya no es posible la confusión con las bien conocidas figuras *crateriformes,* de *hojas de vid,* de *mar de hielo,* etc., que presentan las innumerables variedades de *colibacillus.*

Por lo demás, veremos más tarde que, al contrario de lo que sucede en el cólera, el tifus y varias otras enfermedades infecciosas, no es el cultivo en placas de gelatina el mejor procedimiento para establecer rápidamente el diagnóstico bacteriológico del *bacillus icteroide.*

2.º — CULTIVOS EN GELATINA SOLIDIFICADA

a) Gelatina solidificada verticalmente (inoculación por picadura). — Los cultivos obtenidos por picadura no presentan nada de característico. En la superficie y al rededor del punto de inoculación, el *bacillus icteroide* se desarrolla lentamente como una delgada cabezuela, casi transparente, como una gota de mucus, y sin tendencia á extenderse.

A veces el desarrollo en superficie queda rudimentario ó falta por completo; en cambio, á lo largo de la inoculación el trayecto del hilo de platino aparece claramente como una cinta constituída por pequeñas esferas opacas, que no confluyen nunca, y se presentan más ó menos grandes y distintas en las márgenes y en la extremidad inferior del trayecto inoculado.

b) Gelatina solidificada oblicuamente (inoculación en estrías). — Este género de cultivo, en ciertas condiciones, resulta muy característico. Si la siembra practicada con el asa de platino es muy abundante (como, por ejemplo, sería el material de un

cultivo), el desarrollo se efectúa en toda la superficie del medio nutritivo, bajo forma de una ligera capa más ó menos irisada, pero que no presenta nada de notable.

Cuando, en cambio, se inocula un material relativamente pobre en microbios (como, por ejemplo, trazas de sangre ó un poco de jugo visceral de un animal muerto por la infección pura), de manera que el desarrollo de las colonias pueda hacerse aisladamente, éstas aparecen después de algunos días, como otras tantas perlas de aspecto blanco - lechoso sin irisación. Cuando estas perlas han adquirido un cierto grado de crecimiento, puede éste detenerse y permanecer para siempre estacionarias.

Pero, más comunmente, sobre todo si las colonias se encuentran bastante alejadas entre sí, se produce un fenómeno que describiremos con más detalles al tratar de los cultivos en gelosa; es decir, que las colonias siguen desarrollándose y corriéndose hacia las partes declives y dan lugar á la formación de varios trazos sinuosos que se interceptan y unen en varios puntos, descendiendo hacia el fondo del tubo como lágrimas de cera blanca y brillante.

En este caso el cultivo toma un aspecto tan característico, que es imposible describirlo al natural.

Estas pequeñas lágrimas de aspecto céreo, reuniéndose hacia abajo, forman poco á poco en el fondo del tubo un pequeño depósito de una sustancia blanca reluciente. Con el tiempo, en algunos de los trayectos recorridos por estas pequeñas lágrimas céreas, aparecen, además, *como venillas transparentes* que contrastan singularmente con la opacidad láctea de la masa fundamental, y figuran como si una ligera película externa y opaca se grietara en algunos puntos, dejando ver la masa subyacente de aspecto céreo y de una perfecta transparencia.

3.º — CULTIVOS EN GELOSA (AGAR-AGAR)

Al contrario de lo que sucede con la mayor parte de los microbios patógenos conocidos, el cultivo en gelosa constituye para el *bacillus icteroide* un medio diagnóstico de primer orden; pero la aplicación de este medio diagnóstico no es eficaz sino en las condiciones muy determinadas, que pasamos á establecer en seguida.

Si por medio del asa de platino ó con la extremidad de una pipeta Pasteur conteniendo un poco de sangre ó de jugo esplénico ó hepático, extraído del cadáver de un animal ó de un hombre, en el que no hayan aparecido abundantes infecciones secundarias, se practica una siembra estriada en la superficie de un tubo de gelosa solidificada oblicuamente, y se coloca en seguida este tubo en la estufa á 37° C., se observa, después de 12-24 horas, la aparición de colonias diseminadas en la superficie del medio nutritivo, más ó menos distantes entre sí, según la cantidad ó riqueza en microbios del material sembrado.

Estas colonias no presentan nada de notable. Son redondeadas, grisáceas, algo irisadas, transparentes, de superficie lisa y uniforme y de bordes regulares.

Dejando todavía el cultivo en la estufa, las colonias siguen creciendo un poco más del mismo modo, hasta que, llegadas á un cierto punto, permanecen estacionarias, como las de cualquier especie microbiana.

Pero, si después de haberse desarrollado durante 12-24 horas ó más en la estufa á 37°, se trasladan los cultivos á la temperatura del ambiente de 20° á 28°, el crecimiento sucesivo se efectúa de un modo tan distinto, que se hace notar en seguida. En efecto, después de las primeras 8-10 horas se observa la formación, al rededor de las primitivas colonias, de un rodete que se distingue inmediatamente por su relieve y por su aspecto blanco-opaco, con reflejos nacarados, que contrasta netamente con la parte central, que se conserva plana, irisada y transparente.

Este fenómeno es tan evidente, que puede observarse á la luz artificial, y una vez conocido, deja una impresión tan clara y bien definida, que el distinguir inmediatamente y á simple vista una colonia de *bacillus icteroide* entre todas las demás colonias microbianas hasta hoy descritas, es ya cuestión de una simple inspección superficial.

Dejando siempre el cultivo á la temperatura del ambiente, el *rodete nacarado* continúa su desarrollo, conservando el mismo aspecto. Aumenta de espesor, se hace más prominente y concluye por rodear la colonia primitiva central con un margen ondulado y regular que se eleva bastante sobre el nivel de ésta.

Una vez alcanzada esta faz de su desarrollo, las colonias toman un aspecto característico que podría compararse á la figura de un *sello de lacre,* cuya parte central, deprimida, transparente, lisa, ligeramente irisada y perfectamente circular, está representada por la colonia desarrollada á la temperatura de la estufa, mientras que el rodete exterior, muy prominente, de una opacidad brillante y nacarada y de contorno algo ondulado, lo forma la segunda faz de desarrollo efectuado á la temperatura ambiente.

Cuando las colonias se desarrollan lejos unas de otras, cada una de ellas da lugar á la formación de un *sello* distinto; cuando, por el contrario, el material sembrado fué abundante y las colonias se desarrollaron en la estufa, muy cercanas entre sí, los rodetes exteriores, formados después á la temperatura ambiente, concluyen por fundirse entre sí, y entonces el conjunto del cultivo adquiere un aspecto por demás curioso. Parece como si se hubiera extendido en la superficie de la gelosa una gruesa capa de parafina opaca, y que después, con un pequeño sello circular, se hubiesen practicado tantas impresiones cuantas fueron las primitivas colonias transparentes circulares desarrolladas en la estufa.

En los días siguientes, este margen externo del cultivo sigue aún desarrollándose, siempre que la temperatura del ambiente se mantenga favorable, entre 20°-22°. Si las colonias están algo distantes unas de otras, se observa la aparición de otro carácter biológico interesante.

El rodete nacarado, después de haber formado una especie de cráter al rededor de la pequeña colonia desarrollada en la estufa, sigue creciendo y se corre hacia las partes declives del medio nutritivo, donde cae lentamente como formando un arroyuelo de trementina de Venecia.

Si durante su curso esta especie de arroyuelo se encuentra con otros, confluyen y acaban por formar una finísima red de mallas irregulares que se dirige hacia las partes declives, dejando las huellas profundas de las pequeñas colonias desarrolladas primitivamente en la estufa.

Pero hacia el 10.° día los cultivos comienzan de nuevo á cambiar completamente de aspecto.

Todos los *rodetes*, los pequeños *arroyos* que corren hacia las partes declives; en una palabra: toda la parte del cultivo que se había desarrollado á la temperatura del ambiente, tomando el aspecto opaco-nacarado ya descrito, y elevándose muy por encima del nivel de las primitivas colonias desarrolladas á 37°, comienza á aplastarse, adelgazarse, casi á licuarse, se hace transparente, y desaparece, al fin, casi por completo, dejando sólo en su lugar una finísima película transparente que señala sus límites y conserva su huella.

Mientras se verifica esta extraña metamorfosis en la parte del cultivo desarrollado á la temperatura ambiente, las pequeñas colonias circulares primitivas, crecidas á 37°, se hacen algo más opacas, pero conservan invariable su forma. Y como los rodetes externos, lo mismo que los pequeños arroyos que en ellos tuvieron origen, se han transformado en una delgadísima película transparente, el aspecto final del cultivo es comparable á un pequeño *archipiélago*, en el que las *islas* estarían representadas precisamente por las colonias formadas durante las primeras 24 horas en la estufa á 37°, y la *superficie del agua* por la delgada capa formada por el residuo de la parte desarrollada á la temperatura ambiente.

Como fácilmente se comprende, se tiene en este caso una figura inversa á la descrita en los primeros días de desarrollo.

Llegado á este estado, el cultivo queda para siempre estacionario, no verificándose en lo sucesivo sino muy leves mo-

dificaciones, debidas á inconstantes y variados fenómenos de involución.

La sucesiva aparición de todos estos caracteres morfológicos, que por su originalidad constituyen un ejemplo hasta hoy único en microbiología, depende exclusivamente de la diferente manera de desarrollarse la colonia icteroide en la superficie de la gelosa, según se obtenga este desarrollo á alta ó baja temperatura.

En efecto, si después de haber sembrado el tubo de gelosa se mantiene en la temperatura ambiente, en vez de la de la estufa, se produce un fenómeno opuesto al ya descrito. Las colonias, que van apareciendo en la superficie de la gelosa, no son iguales á las que se desarrollan en la estufa, sino que aparecen como otras tantas *gotas de leche*, de superficie elevada y brillante. Si se mantiene el cultivo siempre á la misma temperatura, estas gotas concluyen por *correrse* hacia las partes declives y fundirse, sin presentar nada característico. Viceversa, si apenas aparece la gota de aspecto lácteo se lleva el tubo á la estufa, se forma inmediatamente al rededor de aquélla un nuevo *rodete*, que, á diferencia del que hemos visto desarrollarse á baja temperatura, es liso, transparente é irisado; así es que la colonia, en vez de presentar, como en el primer caso, el aspecto de un *sello de lacre*, presenta la de un botón con núcleo central más prominente que la zona periférica.

Es innecesario repetir que, para comprobar estos detalles morfológicos, se debe emplear la gelosa solidificada oblicuamente en tubos y sembrar muy pequeña cantidad de material, para obtener el desarrollo de colonias separadas lo más posible entre sí. La siembra de un material abundante, determinando la germinación de colonias rápidamente confluentes, impide la aparición del rodete característico. No obstante, á veces se observa su aparición aún al rededor de colonias confluentes, presentando el aspecto de una delgada cinta brillante y opaca que limita externamente sus contornos en la superficie del medio nutritivo.

Como fácilmente se comprende, estos caracteres morfológi-

cos que presenta el *bacillus icteroide,* son tan típicos, que pueden ser utilizados en la práctica como *medio rápido y seguro para su diagnóstico bacteriológico.*

Para ese objeto debe recomendarse, sobre todo, la mayor dilución del material que ha de sembrarse, ya sea él puro ó contaminado por la presencia de gérmenes de distinta naturaleza. Una vez hecha la dilución en un tubo de caldo estéril, se practicará la siembra del material, pasando sucesivamente la misma asa de platino por la superficie de varios tubos de gelosa, como se procede comunmente para el diagnóstico bacteriológico de la difteria (1).

El diagnóstico bacteriológico de la fiebre amarilla puede, pues, efectuarse en 24-26 horas, cuando más, y presenta sobre el de la difteria la inmensa ventaja que, una vez constatada la aparición del rodete característico, es casi superfluo el examen microscópico de las colonias. Puede, pues, hacerse el diagnóstico bacteriológico de la fiebre amarilla aún sin usar el microscopio.

La única y no pequeña dificultad que presenta en la práctica, es la de poder obtener siempre del enfermo ó del cadáver un material que contenga el microbio específico.

4.º—CULTIVOS EN SUERO SOLIDIFICADO

Este medio nutritivo es poco favorable al desarrollo del *bacillus icteroide.*

La inoculación hecha con un asa de platino cargada de un

(1) En el curso de mis investigaciones ulteriores, he observado que cuando los cultivos han sufrido largos pasajes por muchos animales, parte de las colonias pierden la propiedad de formar regularmente en la gelosa el *rodete* característico. En este caso, sólo un pequeño número de ellas se presentan aún con la forma descrita.

Con el fin de mantener en las colonias el primitivo carácter, que se observa siempre que se aislan del enfermo ó del cadáver, acostumbro aislar y emplear, siempre, en los pasajes sucesivos, sólo aquellas colonias que se desarrollan con su completo aspecto típico.

Esto confirma, más aún, la extraordinaria tendencia al pleomorfismo que presenta el bacillus icteroide en todos los medios nutritivos artificiales.

Este pleomorfismo indica también que no se puede considerar aún como definitivamente terminado el estudio morfológico del microbio de la fiebre amarilla.

cultivo en caldo, da lugar á la producción de una ligera capa brillante sumamente transparente y apenas visible. El crecimiento es rápido, pero se detiene después de 24 horas, y da lugar, por consiguiente, á un cultivo muy pobre.

Cuando la inoculación haya sido hecha con escaso material, las colonias que se desenvuelven aparecen como pequeñas gotas de rocío semi transparentes y apenas perceptibles.

Las preparaciones coloreadas de microbios desarrollados en suero hacen resaltar las malas condiciones de este medio nutritivo; en efecto, las formas observadas son más pequeñas que las comunes, redondeadas, y semejan micrococcus aislados ó reunidos á pares.

5.º — CULTIVOS EN PATATAS

Tampoco se presta bien la patata para los cultivos del *bacillus icteroide.* Éste se desarrolla en la superficie del corte bajo forma de una delgada película transparente, *glacée,* casi invisible, y que permanece estacionaria y sin alteración durante muchos meses, sin oscurecerse nunca, como lo hace la conocida cultura *clásica* del *bacillus tífico,* que puede considerarse como muy análoga.

CULTIVOS EN MEDIOS NUTRITIVOS LÍQUIDOS

6.º — CULTIVOS EN CALDO DE CARNE

El caldo de Löfler simple puede contarse entre los mejores medios nutritivos para el microbio de la fiebre amarilla.

Cuando el microbio ha sido recientemente aislado del cadáver y no parece aún habituado á vivir en medios nutritivos artificiales, las primeras inoculaciones en caldo simple resultan muy pobres ó no germinan. Lo mismo sucede cuando se siem-

bra en caldo, material procedente de viejos cultivos en gelosa.

En ambos casos los cultivos son siempre pobres, y los microbios que en ellos se desarrollan muestran ya después de las primeras 24 horas, formas de involución representadas por dilataciones terminales en forma de maza.

Se repite, por consiguiente, un fenómeno idéntico al que habrá tenido ocasión de observar todo aquel que haya trabajado con el vibrión colérico. El cultivo en caldo es siempre menos desarrollado que en la gelosa, sobre todo si el microbio por cualquier causa ha perdido algo de su vigor vegetativo.

Pero cuando el *bacillus icteroide* se ha adaptado definitivamente á la vida en medios nutritivos artificiales, el cultivo en caldo se obtiene entonces regularmente y se produce en forma de un enturbiamiento siempre abundante.

Nunca se forman películas ni depósitos floconosos.

No se obtiene un buen desarrollo á temperaturas inferiores á 14°-16° C.

Los microbios se multiplican desde el principio en forma regular y algo más larga que las que se observan en la gelosa, pero después de 5 ó 6 días empiezan á aparecer numerosas formas de involución; en este caso, cada una de las células se alarga, se engruesa en los polos y presenta nudosidades, fragmentaciones, degeneraciones vacuolares, etc., hasta que hacia el 10.° día no se encuentran ya formas normales: todo el cultivo se ha transformado en un conjunto de formas irreconocibles.

7.° — CULTIVOS EN LECHE

El cultivo del *bacillus icteroide* se obtiene fácilmente en la leche, sin que se produzca — ni aún después de muchas semanas — la coagulación de la caseína. Sin embargo, este hecho — como veremos más adelante — no significa que el microbio de la fiebre amarilla sea incapaz de atacar la lactosa y producir ácido láctico.

CULTIVOS EN MEDIOS NUTRITIVOS ESPECIALES

8.º — CULTIVOS EN CALDO DE CARNE CON LACTOSA AL 2 % Y $Ca\ CO^3$

Es éste el mejor medio nutritivo líquido para cultivar el *bacillus icteroide:* se desarrolla en él con abundancia; con todo, no forma películas ni depósitos floconosos, ni da lugar á fermentación aparente del azúcar.

9.º — CULTIVOS EN CALDO DE CARNE CON GLUCOSA AL 2 %

En este medio se obtiene un desarrollo bastante rápido; pero al mismo tiempo se produce una activa fermentación de la glucosa con abundante desprendimiento de gases.

10.º — CULTIVOS EN CALDO DE CARNE CON SACAROSA AL 2 %

Se obtiene un cultivo abundante sin visible fermentación del azúcar.

11.º — CULTIVOS EN CALDO DE CARNE CON SACAROSA AL 2 % Y $Ca\ CO^3$

La adición de carbonato cálcico descubre una ligera fermentación del azúcar, que se manifiesta por la aparición de pocas y pequeñas burbujas de gas, que en las primeras horas de cultivo aparecen en la superficie del líquido.

12.º — CULTIVOS EN GELOSA DE WURTZ

(Gelosa conteniendo lactosa y tintura azul de tornasol)

En este medio el *bacillus icteroide* se desarrolla como en gelosa común; pero desde el 2.º ó 3.er día el color azul del substractum comienza poco á poco á virar al rojo, hasta que al 4.º ó 5.º día toda la masa azul de gelosa se ha coloreado en rojo cereza. Esto demuestra evidentemente que el *bacillus icteroide* — que no es capaz de fermentar los caldos lactosados — ataca, no obstante, ligeramente al azúcar de leche en un medio nutritivo en el cual esta fermentación pueda ser descubierta por un procedimiento bastante sensible, aún en pequeñas trazas. En consecuencia, debe admitirse que el *bacillus icteroide* fermenta en general todos los azúcares.

13.º — CULTIVOS EN GELATINA DE PAPAS

(Acidez natural). — Ningún desarrollo.

14.º — CULTIVOS EN GELATINA DE PAPAS Y KYo AL 1 %

(Acidez natural). — Ningún desarrollo.

15.º — CULTIVOS EN GELOSA ELSNER

Acidez natural con caldo de patatas, sulfato de quinina al 1 % y acetato de bario al 0.25 %.

Desarrollo sumamente lento y limitado después de las 24 horas.

16.º — CULTIVOS EN CALDOS PARIETTI

El *bacillus icteroide* puede desarrollarse en caldo de carne, soportando hasta 9 gotas por cada 10 c. c. de caldo, de la mezcla ácida de Parietti. (Agua 100, ácido sulfúrico 5.00, ácido clorhídrico 4.00).

17.º — CULTIVOS EN LÍQUIDO PASTEUR

Agua 100. — Azúcar cande 10. – Tartrato amónico 0.50. — Fosfato potásico 0.10.

Desarrollo muy escaso. Sin embargo los microbios conservan en él todos sus caracteres morfológicos.

18.º — CULTIVOS EN INFUSIÓN DE HENO

Desarrollo casi imperceptible. Los microbios se multiplican con dificultad, presentando formas atípicas.

V

Patología comparada de la infección amarilla

El microbio específico de la fiebre amarilla es patógeno para la mayor parte de los animales domésticos.

Hay pocos microbios cuyo dominio patológico sea tan extenso y variado. Las aves son completamente refractarias, mientras que todos los mamíferos en que he experimentado son más ó menos sensibles á la acción patógena del *bacillus icteroide.*

Como material de inoculación, en todas mis experiencias he usado cultivos de 24 horas en caldo lactosado al 2 °/₀ con $CaCO^3$.

He preferido el caldo lactosado al simple, porque en el primero el *bacillus icteroide* se desarrolla con más rapidez y abundancia.

La adición de una sal inactiva como el carbonato cálcico, responde á dos fines: 1.° neutralizar las pequeñas cantidades de ácido láctico, que indudablemente prepara el *bacillus icteroide* á expensas de la lactosa, y que podrían influir en su ulterior desarrollo; 2.° descubrir inmediatamente la existencia de infecciones microbianas comunes, sobre todo debidas al *colibacillus,* al *staphilococcus* y al *streptococcus.*

Los dos primeros descubren inmediatamente su presencia por la activa fermentación que producen, visible ya á las pocas horas por las pequeñas burbujas de anhidrido carbónico que aparecen en la superficie y son debidas á la acción del ácido láctico neoformado sobre el carbonato cálcico.

En cuanto al *streptococcus,* he utilizado un carácter muy interesante. Es sabido que el *streptococcus*, lo mismo que el *bacillus icteroide,* cultivados separadamente en caldo lactosado con Ca CO^3, no determinan fermentación apreciable, por más que ambos puedan atacar lentamente la lactosa con producción de pequeñas cantidades de ácido láctico. En cambio, cuando se encuentran reunidos, la fermentación se manifiesta siempre con producción de anhidrido carbónico, aún en los caldos lactosados, de manera tan regular, que puede adoptarse como criterio indicador de absoluta seguridad.

En las múltiples investigaciones emprendidas con el objeto de determinar si esta exaltación de las propiedades fermentativas — debida á la simbiosis de los dos microbios -- procede del *bacillus icteroide* ó del *streptococcus,* ó bien de ambos, no he obtenido resultados definitivos.

La patología comparada del *bacillus icteroide* se encuentra compendiada en la exposición sucinta de las siguientes experiencias:

A. — INFECCIÓN AMARILLA EN LOS RATONCILLOS BLANCOS

(Mus Musculus Albinus)

Estos pequeños animales son extremadamente sensibles, aún á la acción de pequeñísimas dosis de virus icteroide. Algunas gotas inyectadas bajo la piel, los mata regularmente después de 3-5 días de enfermedad.

Los síntomas observados durante ese tiempo no tienen nada de característico: 24 horas después de la inyección el animal comienza á perder su vivacidad habitual, se pone triste y se arrincona en la jaula; poco después le aparece una secreción catarral de los párpados, cierra los ojos, se enfría y muere.

Las lesiones anatomo-patológicas son las siguientes: el *hígado* presenta manchas blanquecinas muy semejantes á las bien conocidas *taches anémiques de Hannot.* En relación con estas manchas, las células hepáticas examinadas en el estado fresco se presentan atacadas por una intensa degeneración granulosa;

el *bazo* está enormemente tumefacto y hemorrágico, y alcanza á veces 3 - 4 veces el volumen normal; los *riñones* se presentan también muy congestionados y con el aspecto de la glomérulo - nefritis.

Los cultivos demuestran la presencia de innumerable cantidad de microbios, tanto en la sangre como en los órganos. En el bazo y en la sangre pueden observarse en cantidad por un simple examen microscópico directo, previa una coloración cualquiera.

Se trata, por consiguiente, de una verdadera infección septicémica que se manifiesta después de 5 días de enfermedad.

Los cultivos de las cavidades serosas descubren á veces un número muy limitado de microbios, muy inferior, en todos los casos, al que se encuentra en la sangre y en el parénquima de los órganos.

B. — LA INFECCIÓN AMARILLA EN EL COBAYA

El cobaya (conejillo de Indias) es un animal muy sensible al *bacillus icteroide.*

La infección se puede obtener indiferentemente por las vías subcutánea, peritoneal, intravenosa é intra - traqueal.

La duración de la enfermedad, lo mismo que las lesiones anatomo - patológicas, varían algo según la manera como se ha producido la infección.

1.° — Infección subcutánea

La dosis mínima mortal no puede fijarse. En el curso de mis experiencias empleo por lo general la dosis de 0.5 centímetros cúbicos de un caldo - cultivo de 24 horas; pero los resultados no varían mucho aunque se empleen 0.5 c. c. ó 0.1 c. c.

La fiebre amarilla experimental en los cobayas es una enfermedad cuyo curso cíclico no puede ser modificado por la cantidad de virus inoculado.

Esta enfermedad dura, término medio, de 5 á 8 días; pero

el mayor número de muertes se produce generalmente al 7.° día de enfermedad.

Excepcionalmente los cobayas pueden morir después de las primeras 48 horas y después de 15-20 y aún 30 días. Pero, como ya he dicho, esto no depende de la cantidad de cultivo inoculado, sino de excepcionales condiciones de resistencia del animal, puesto que en muchas series de experiencias dirigidas á resolver definitivamente este punto discutido, he visto morir regularmente al 6.° ó 7.° día — y aún antes — los cobayas inoculados con 0.1 - 0.2 - 1.0 c. c., etc., y sobrevivir hasta el 14.° ó el 16.° día, los inoculados con 0.5 - 2.0 c. c.

Los fenómenos observados durante el período de la enfermedad son dos: la fiebre y el enflaquecimiento.

En efecto: en las 24 horas siguientes á la inyección del virus, la temperatura rectal del cobaya, que normalmente es de 38°- 39° C., sube á 39°6 - 40°8, y se constata una disminución de peso de 20 - 30 y más gramos.

El animal conserva, no obstante, su vivacidad habitual.

En los días siguientes la temperatura llega hasta 41°- 41° 5 C., y el peso sigue disminuyendo irregularmente, pero casi sin interrupción, hasta la muerte, que se produce, por regla general, como ya he dicho, entre el quinto y el octavo día, después de algunas deyecciones diarreicas.

El resultado de la investigación anatómica es el siguiente: el punto de inoculación presenta á veces un edema hemorrágico ó una extensa infiltración con aspecto ligeramente purulento; las *glándulas linfáticas* axilares están extraordinariamente engrosadas y congestionadas; á la apertura de la cavidad torácica, los *pulmones* aparecen normales; á veces están sembrados de pequeñas manchas equimóticas, y en los casos de muy larga duración se encuentran las pleuras y el pericardio llenos de un trasudado cetrino ó hemorrágico. El músculo cardíaco está normal; por debajo del esternón, la *glándula timo* — sobre todo en los casos de más larga duración — aparece muy hipertrofiada, de aspecto pálido, casi blanco - amarillo, purulento.

Al abrir la cavidad abdominal, el *peritoneo* se presenta casi siempre algo congestionado; pero sólo en los casos algo cró-

nicos nos es dado encontrar una pequeña cantidad de exudado, por lo general muy denso y á veces tan rico en elementos linfoideos, que presenta el aspecto de un líquido lactescente; el *hígado* está siempre congestionado, pero de aspecto normal. Sólo en los casos crónicos, es decir, cuando el animal muere después de muchos días, el hígado se presenta evidentemente degenerado, gris-pálido y con aspecto de nuez moscada. En un cobaya muerto á los dos meses y medio, después de una segunda inyección de virus, de 25 grs. de tejido hepático se extrajeron grs. 1.3 de sustancia grasa. No obstante, la degeneración adiposa de la célula hepática no llega nunca á adquirir en el cobaya el aspecto que hemos descrito en el hombre y que volveremos á observar en otros animales.

En los cobayas la célula hepática resiste mucho á la acción del veneno icteroide, el cual produce, cuando más, un enturbiamiento granuloso del protoplasma y fenómenos de necrosis celular, á los que siguen raramente procesos bien caracterizados de degeneración adiposa.

La hipertrofia del *bazo* constituye el resultado más constante y característico de la infección amarilla en el cobaya. Se presenta siempre muy pronunciada y llega á 4-5 veces el volumen normal.

En este caso el órgano se presenta rojo oscuro, poco resistente, muy rico en pulpa y fácilmente friable.

El grado de hipertrofia depende, sobre todo, de la duración de la enfermedad. En los casos que excepcionalmente evolucionan en 3 ó 4 días, el tumor esplénico es poco pronunciado; en cambio, en los que pasan el término ordinario de 8 días, se presenta siempre aumentado, hasta adquirir á veces dimensiones extraordinarias.

Si la enfermedad ha sido de larga duración (casos crónicos), el bazo se presenta más pálido que de costumbre, lo que demuestra el carácter neoformativo del proceso inflamatorio, que termina dando lugar á alteraciones visibles y duraderas, representadas por la hiperplasia de la pulpa, de las trabéculas, de las paredes vasales, etc.

Después del bazo, el órgano que con más frecuencia llama

la atención en los cobayas es el *riñón.* El tejido renal del cobaya no reacciona al veneno amarillo con la sensibilidad del tejido renal del hombre ó de algún otro animal que estudiaremos en adelante; no obstante, lo mismo en los casos agudos que en los crónicos, este órgano se presenta siempre algo alterado.

En los casos agudos se trata especialmente de procesos congestivos; en los casos crónicos la alteración glomerular es evidente, y puede caracterizarse á simple vista.

Respecto á la *orina,* la investigación de la albúmina no da en los cobayas resultados atendibles. Pocas veces he podido demostrar su presencia, usando la reacción de *Heller,* en casos que habían durado 16-20 días. Una sola vez pude descubrirla en mínima proporción en la orina de un animal muerto después de 6 días de enfermedad; á tales resultados no puede darse grande importancia.

En cuanto al *aparato digestivo* — al contrario de lo que he establecido para el veneno tífico, y en oposición de lo que se verifica en el hombre y en el perro — parece muy resistente á la acción del veneno amarillo. En efecto, en la mayor parte de las autopsias practicadas en animales muertos por infección subcutánea (que se elevan ya á algún millar), he hallado el canal intestinal casi completamente normal, si se exceptúa la existencia de una ligera distensión ó de un estado congestivo general, más ó menos marcado y que es común á todas las infecciones experimentales. Sólo en algunos casos de curso excepcionalmente agudo, por inyección de un virus exaltado transitoriamente (muerte á las 36-48 horas), pude observar en el tubo intestinal todas las lesiones de una gastro - enteritis aguda con largas porciones de intestino delgado llenas de sangre.

Pero lo que constituye el hecho más saliente de la infección amarilla experimental en el cobaya, no es tanto el cuadro de las alteraciones morbosas, cuanto el resultado del análisis bacteriológico.

Cualquiera que considere *á priori* el largo curso cíclico de esta infección en los cobayas, se inclinará á considerar el proceso morboso como una intoxicación, más bien que como una infección común.

Sin embargo, los cultivos preparados con la sangre y las vísceras de los cobayas que mueren después del período ordinario de 6-8 días, demuestran la existencia de una abundancia extraordinaria de microbios diseminados por todo el organismo y, sobre todo, en el bazo; estos animales sucumben, pues, á una infección de forma septicémica.

Á medida que la muerte se aleja del término ordinario antes indicado, los microbios que se encuentran en la autopsia van siendo menos abundantes.

Comienzan á disminuir y luego á desaparecer, primero de la sangre en circulación — donde se encuentran siempre en menor proporción, aún en las formas agudas, — después de los riñones, y en seguida del hígado.

El bazo es el órgano donde se encuentran siempre microbios, aún después de larga enfermedad. Sólo en algunos casos de duración excepcional (40-50 días), el animal puede morir por intoxicación y caquexia y presentar un cadáver estéril.

Establecido el hecho, bastante curioso, de una septicemia que mata á los animales después de una enfermedad febril de 7 días, quedaba por estudiar la manera de comportarse los microbios inoculados en el organismo durante este período cíclico.

Con este objeto he inoculado al mismo tiempo varias series de cobayas, que sacrificaba de 12 en 12 horas, practicando cultivos comparativos de la sangre y de las vísceras, hasta que, terminado el período cíclico, comenzaban á sucumbir espontáneamente.

De ese modo pude verificar el siguiente orden de hechos: después de 12 horas, los microbios inoculados bajo la piel aparecen ya constantemente en el bazo; de la sangre, sólo cultivando grandes cantidades en medios líquidos, se pueden obtener cultivos positivos. Después de 24 horas, se obtiene también algún cultivo fértil del hígado.

Del segundo al quinto día inclusive, salvo excepciones, los cultivos, ó permanecen completamente estériles, ó demuestran la existencia de escasos microbios sólo en el bazo. Al sexto día, se produce una inesperada irrupción general de microbios en la sangre y en los órganos, quedando siempre el bazo como su

asiento preferido, de tal manera que el séptimo día, cuando se produce la muerte, la abundante y general multiplicación de los microbios presenta el tipo de una verdadera septicemia.

Este modo de comportarse el microbio icteroide en el organismo de los cobayas durante la enfermedad que hemos descrito, merece toda nuestra atención, no solamente porque — como veremos más adelante — se repite el mismo hecho en los conejos y en los monos, sino porque este tipo infeccioso experimental presenta muchas analogías con el espontáneo, que se verifica en el hombre.

Otro hecho que conviene tener en cuenta en el estudio microbiológico de la infección amarilla subcutánea del cobaya, es la completa ausencia ó suma escasez de microbios en las cavidades serosas.

En efecto, aún en los casos de curso agudísimo, las cavidades pléurica y peritoneal resultan casi siempre estériles ó sólo dan lugar á muy pocas colonias. El examen microscópico del líquido peritoneal demuestra á veces la presencia de grandes fagocitos completamente llenos de microbios, sin que puedan encontrarse éstos en el estado de libertad.

Esto contrasta singularmente con el resultado de la mayor parte de las infecciones experimentales, sobre todo las debidas al *colibacillus* ó al *bacillus tífico,* las cuales — como es sabido — cualquiera que sea la vía de penetración en el organismo, encuentran siempre, sobre todo en la cavidad peritoneal, un medio favorable á su localización y multiplicación.

2.° — Infección peritoneal

Este modo de infección en los cobayas sólo presenta interés en cuanto sirve para establecer un hecho que utilizaremos en adelante, y que tiene relación con lo que acabamos de decir respecto á las localizaciones serosas del *bacillus icteroide,* y con lo que hicimos notar á propósito de la infección en los ratoncillos blancos.

En primer lugar, por lo que respecta á la duración de la enfermedad, puede aceptarse que la vía peritoneal abrevia algo la duración.

Por lo general, los cobayas mueren en cuatro días, presentando, como regla, notable enflaquecimiento y un abundante exudado sero-fibrinoso en el peritoneo. En todo lo demás, el examen anatomo-patológico da el mismo resultado que en los muertos por infección subcutánea.

Excepcionalmente, y con independencia de la dosis de virus — que en un caso fué de 10 centímetros cúbicos — la muerte puede ocurrir al final del período clásico, es decir, á los 6-7 días.

En tal caso el exudado peritoneal es comunmente hemorrágico y las lesiones viscerales son mucho más acentuadas; el *timo* se halla extraordinariamente hipertrofiado, el *bazo* muy grande, los *riñones* inflamados, y la *orina* puede contener albúmina, corpúsculos grasos y hasta espermatozoides.

La infección es siempre general y de tipo septicémico, como en todos los demás casos; pero lo interesante es que el exudado peritoneal — cualquiera que sea su naturaleza — presenta una cantidad de microbios tan pequeña, que contrasta con la abundancia en que se encuentran en todo el resto del organismo.

Por lo demás, el examen microscópico del exudado peritoneal raramente descubre bacillus libres: todos los microbios se encuentran regularmente en el interior de leucocitos polinucleados.

Esto depone indudablemente en sentido de que *el bacillus icteroide, aún en los casos en que, vencida la resistencia natural del organismo, produce una infección generalizada, encuentra siempre dificultades para vivir y multiplicarse en las grandes cavidades serosas.*

3.° — Infección intravenosa

Es una forma de infección que no presenta ventajas experimentales sobre las otras.

La inyección del virus en las venas tiene el único objeto de abreviar á veces el período de la enfermedad, como la infección peritoneal. En cuanto á las lesiones anatómicas y al

comportamiento de los microbios en el organismo, el resultado es el mismo que el que se obtiene mediante las inyecciones subcutáneas.

4.º — *Infección por las vías respiratorias*

Este modo de contagio presenta, del punto de vista práctico, cierto interés, por cuanto — como es sabido — está todavía por establecerse aún cuál es la vía de penetración del virus amarillígeno en el organismo humano.

Producía la infección inyectando directamente en la tráquea — previa traqueotomía — una gota de caldo-cultivo de 24 horas.

La muerte del animal ocurre, por regla general, entre las 16 y 48 horas. En los casos de curso más rápido se encuentra en la autopsia una neumonía lobular, bilateral, con congestión intensa de la mayor parte del pulmón y exudado seroso ó ligeramente hemorrágico de la pleura; el peritoneo suele contener poco exudado cetrino, el hígado y el bazo están congestionados, los intestinos diarreicos y con enteritis descamativa.

El resultado bacteriológico es, *por lo general, negativo*. Raramente se encuentran pocos microbios en el exudado pléurico y en el bazo.

Cuando los cobayas mueren después de dos días, entonces el resultado del examen anatómico es *completamente negativo:* no hay señales de procesos inflamatorios en los pulmones, ni se encuentra la mínima alteración de las vísceras: hasta el bazo tiene su aspecto normal.

El examen bacteriológico sólo demuestra la presencia de pequeñas cantidades de microbios en los pulmones, *aparentemente sanos* y — como siempre — en el bazo.

En consecuencia, en los casos de infección obtenida en los cobayas por las vías respiratorias, el *proceso morboso, más bien que el tipo común de una infección general, presenta el de una verdadera intoxicación.*

No pueden escapar á nadie las grandes analogías de estos resultados con los que se obtienen á menudo en la fiebre amarilla humana, cuando se encuentra el cadáver completamente

estéril, ó sólo contaminado por pocos microbios de infección secundaria.

Cualquiera que sea la vía de penetración del virus y la duración de la enfermedad en los cobayas, ésta evoluciona siempre sin infecciones secundarias. Los cultivos que se obtienen de la autopsia son completamente puros.

En cuanto á la virulencia de los microbios, diré, de un modo general, que el *bacillus icteroide* conserva bastante bien y por largo tiempo su virulencia en los cultivos artificiales.

De los cobayas que mueren dentro del período cíclico habitual, se obtiene el virus dotado de una actividad siempre constante.

En los cultivos obtenidos de casos en los que la muerte se produjo excepcionalmente en 2-3 días, no se observa aumento de virulencia. Su inyección en otros cobayas reproduce invariablemente el período cíclico ordinario de la enfermedad.

He observado algunas veces producirse la muerte á las 36-48 horas, después de inyecciones de cultivos procedentes de gatos y monos.

Pero este hecho no es constante, y además, ese supuesto aumento de virulencia es completamente transitorio, puesto que al segundo pasaje vuelve al estado normal.

Algunas tentativas dirigidas á obtener en los cobayas una enfermedad de curso agudísimo y constante, fueron infructuosas; la infección amarilla en estos animales tiene siempre una tendencia sumamente desarrollada á mantener su curso cíclico habitual.

En conclusión: la enfermedad producida en los cobayas por el *bacillus icteroide* presenta los siguientes caracteres principales y constantes: adenitis axilares é inguinales y lesiones hepáticas de degeneración en los casos crónicos; menos frecuentemente se encuentran enteritis, nefritis y albuminuria; en fin, muy raras veces pueden observarse derrames hemorrágicos en las serosas.

El resultado del examen bacteriológico es el de una *infección,* en los casos en que la penetración del virus se efectuó

por vía subcutánea, intravenosa ó peritoneal, y el de una *intoxicación* en los casos de contagio por las vías respiratorias.

C. — LA INFECCIÓN AMARILLA EN LOS CONEJOS

El conejo puede considerarse como el animal de elección para la infección amarilla experimental.

Está dotado de una sensibilidad más marcada que la de cualquier otro animal de laboratorio, y tiene sobre los mismos cobayas las siguientes ventajas: muere siempre en un período fijo, no presenta nunca la enfermedad crónica, sea cualquiera la dosis de virus empleada, y puede matarse regularmente en 48 horas por inyección intravenosa.

Es conveniente hacer notar desde ahora, que para las experiencias en conejos no es indiferente emplear cultivos obtenidos con cobayas, y recíprocamente.

En general he observado que el virus pasado por cobayas, mientras se conserva muy activo para éstos, se atenúa algo para el conejo, y recíprocamente el virus de pasaje en el conejo se atenúa para el cobaya.

Debo agregar, sin embargo, que este carácter del virus amarillígeno no tiene siempre el valor de una ley constante.

Una doble serie de investigaciones emprendidas con el objeto de establecer la importancia de este hecho, me dió los resultados que resumo en la tabla siguiente.

El virus de los conejos procedía de 67 pasajes sucesivos y no interrumpidos, obtenidos siempre por inyección intravenosa.

El virus de los cobayas procedía de un número indeterminado de pasajes sucesivos, obtenidos siempre de cobaya á cobaya desde el principio de mis trabajos.

Las inyecciones fueron hechas siempre por vía subcutánea.

VIRUS PASADO POR CONEJOS

CONEJOS	Dosis de cultivo inoculado	Muerte á las	COBAYAS	Dosis de cultivo inoculado	Muerte á los
Conejo 1.°......	0.1 cm. cúb.	48 horas	Cobaya 1.°.....	0.1 cm. cúb.	22 días
Conejo 2.°......	0.2 » »	7 días	Cobaya 2.°.....	0.2 » »	17 »
Conejo 3.°......	0.5 » »	5 »	Cobaya 3.°.....	0.5 » »	23 »
Conejo 4.°......	1.0 » »	5 »	Cobaya 4.°.....	1.0 » »	10 »
Conejo 5.°......	2.0 » »	5 »	Cobaya 5.°.....	2.0 » »	5 »

VIRUS PASADO POR COBAYAS

Conejo 1.°......	0.1 cm. cúb.	3 días	Cobaya 1.°.....	0.1 cm. cúb.	3 días
Conejo 2.°......	0.2 » »	8 »	Cobaya 2.°.....	0.2 » »	7 »
Conejo 3.°......	0.5 » »	7 »	Cobaya 3 °.....	0.5 » »	10 »
Conejo 4.°......	1.0 » »	8 »	Cobaya 4.°.....	1.0 » »	5 »
Conejo 5.°......	2.0 » »	8 »	Cobaya 5.°.....	2.0 » »	6 »

A pesar de las grandes oscilaciones que presentan los resultados de estas experiencias — hecho muy común en la infección amarilla experimental, — de la apreciación del conjunto resulta lo que hace poco afirmaba:

Los cultivos pasados por conejos son más activos para estos animales que los que han sido pasados por cobayas, y recíprocamente. La atenuación del virus que resulta del pasaje por animales de especie diferente se manifiesta mucho mejor en los cobayas que en los conejos, porque estos últimos, como ya dije, son mucho más sensibles que los primeros á la infección amarilla.

Es probable que no escape al examen de la tabla anterior una particularidad curiosa.

En las dos series de conejos, y en la última de cobayas, las dosis de virus más pequeñas fueron las que produjeron la muerte en menor tiempo.

Es éste un hecho que he tenido ocasión de constatar repetidas veces en otras series de investigaciones, y del cual me es imposible dar explicación, tanto más cuanto que no se repite de un modo constante.

La infección experimental en los conejos puede producirse por las mismas vías que hemos estudiado en los cobayas.

1.ª — Infección subcutánea

La dosis mínima mortal no está establecida, pero experimentalmente puede considerarse como muy pequeña, puesto que se obtiene la muerte de los animales en el mismo período de tiempo — que oscila entre 4-5 días, — tanto si se inyecta 0.1 c. c., como si se inyectan 2.0 c. c. Por excepción puede ocurrir la muerte en un tiempo mucho más breve.

Los fenómenos objetivos presentados durante la enfermedad no tienen nada de interesante. El animal tiene hipertermias y constante disminución del peso del cuerpo, pero conserva su aspecto de bienestar, aun cuando los microbios se encuentran en cantidad considerable en la sangre.

El proceso biológico de la infección en los conejos es en gran parte idéntico al estudiado en los cobayas, con la sola diferencia que la invasión general del organismo por los microbios se verifica de un modo precoz y mucho antes de la muerte.

En efecto, sacrificando cada 12 horas los conejos inoculados contemporáneamente con una dosis de 0.5 centímetros cúbicos de caldo-cultivo, resulta lo siguiente: durante las primeras 24 horas todos los órganos se encuentran estériles, pero de la 36ª hora en adelante, los cultivos de sangre y de hígado son ya positivos, y los del bazo contienen el *bacillus icteroide* en innumerable cantidad; al tercer día todo el organismo está ya invadido, el bazo está hipertrofiado y plagado de microbios. Es fácil obtener abundantes cultivos de la sangre en circulación, 24 horas antes de la muerte, extrayendo algunas gotas de una vena auricular, mediante una pipeta afilada.

El resultado de la autopsia es el siguiente: notable hipertrofia de los ganglios axilares é inguinales, sobre todo los que corresponden al lado en que fué hecha la inoculación; en la cavidad torácica aparece extraordinariamente hipertrófica y congestionada la glándula *timo;* los *pulmones,* inalterados. Al abrir la cavidad abdominal aparecen las *masas intestinales* enormemente dilatadas y diarreicas, y á veces se encuentra reunida en la misma cavidad abdominal una cierta cantidad de líquido

hemorrágico. El *bazo* está siempre hipertrofiado y representa en los conejos y cobayas el carácter constante y casi específico de la infección amarilla. El grado de hipertrofia esplénica no siempre es idéntico, pero presenta casi el mismo aspecto que el bazo pneumococóxico; es de color rojo oscuro, consistente, tumefacto, y presenta á la sección una superficie seca.

El examen histológico de los cortes endurecidos en el alcohol ó en licor de Flemming, descubre una enorme infiltración hemorrágica de todo el tejido esplénico, especialmente por debajo de la cápsula; los elementos propios del bazo se encuentran disociados ó reunidos en pequeños grupos en medio de grandes masas de sangre extravasada. Los microbios se encuentran allí en abundancia, pero están reunidos como en el hombre, en pequeñas masas compactas situadas entre los focos sanguíneos.

El *hígado* se presenta siempre muy congestionado y de color oscuro. Al examen histológico (fijación en líquido de Flemming y coloración con el método de Martinotti) aparece ante todo una enorme congestión vasal de todo el órgano, y tanto las venas centrales como la red capilar envolvente, están tan dilatadas y turgentes, que la trama celular se encuentra á menudo extraordinariamente comprimida y reducida. En algunos puntos el protoplasma celular se presenta menos granuloso, como enrarecido ó vacuolar, y á veces disminuído de volumen, pero sus contornos se conservan siempre netos.

Los núcleos aparecen casi siempre inalterados; en el conectivo perilobular existe siempre una infiltración embrionaria, que á veces es considerable.

En el conejo comienza á observarse la esteatosis de las células hepáticas, pero muy limitada.

La mayor parte de las células se conservan inmunes; pero en el campo del microscopio se observan siempre muchos grupitos de gotas de grasa de varias dimensiones, coloreados en negro por el ácido ósmico. Estas gotitas adiposas están diseminadas en el tejido hepático sin orden fijo, ya en forma de pequeñas masas, ya en forma de cadenillas ó de finas granulaciones distribuídas irregularmente.

No se observan nunca gotas de grandes dimensiones, como las que encontraremos en el hígado de animales más superiores y que hemos descrito en el hígado humano.

Los *riñones* presentan en los conejos, con más frecuencia que en los cobayas, alteraciones de naturaleza inflamatoria. Son muy frecuentes las afecciones glomerulares y las hemorragias puntiformes de la sustancia cortical. El examen histológico descubre siempre una tumefacción turbia de la mayor parte de los epitelios, una gran parte de los cuales se encuentran muy á menudo completamente necrosados y convertidos en masas granulosas informes y sin núcleo.

El diámetro de los tubuli se halla notablemente disminuído, y frecuentemente su cavidad está llena de *detritus*, elementos epiteliales y cilindros hialinos, á veces muy extensos, conteniendo en su interior células epiteliales.

En algunos puntos estas células se han desprendido de la sección, y entonces el tubo presenta un aspecto fenestrado.

Los glomérulos presentan á veces asas vasales despojadas de su epitelio, pero en general no parecen sino excesivamente llenos de sangre. Los vasos del tejido conectivo interlobular también aparecen en algunos puntos muy dilatados y presentan numerosos desgarros lagunares á lo largo de sus ejes, que alcanzan en dimensión muchas veces el diámetro de la sección del tubuli y son visibles á simple vista en las piezas endurecidas en el alcohol, bajo la forma de pequeños rayos oscuros que se dirigen perpendicularmente á la parte cortical siguiendo el curso de los canalículos.

No es raro hallar extensas hemorragias intersticiales con destrucción de gran parte de tejido renal. En este caso la zona hemorrágica aparece como una capa compacta, uniforme, de fibrina coagulada, en medio de la cual se encuentran cúmulos de glóbulos sanguíneos y secciones transversales completas de tubuli renales disociados completamente del resto del tejido.

La *degeneración grasa* sólo aparece muy poco acentuada en el centro de pocos tubuli, donde en medio de detritus epiteliales degenerados, se observan alguna vez finísimas granulaciones negras.

En cuanto á la *orina*, puede encontrarse en la vejiga en cantidad variable; unas veces límpida, otras extraordinariamente rica en sedimentos. La presencia de la albúmina no es constante, pero en algunos casos se puede evidenciar su presencia aún con los medios menos sensibles, como la acción del calor.

Los resultados del examen bacteriológico son los siguientes: los microbios se encuentran difundidos en la sangre y en los órganos en cantidad innumerable y en estado de absoluta pureza: sólo en la cavidad peritoneal son siempre escasos y por lo general englobados por los leucocitos. Se trata, pues, de una verdadera septicemia mucho más grave que las descritas en los ratoncillos y cobayas.

Como la infección amarillígena no asume nunca en los conejos la forma crónica, las alteraciones anatómicas se limitan á las ya descritas. En efecto, ningún conejo, entre los centenares que he sacrificado, ha sobrevivido á la infección más allá del término antes indicado, cualquiera que fuese la dosis de virus inoculado.

2.ª — Infección intravenosa

No difiere de la precedente sino en la duración de la enfermedad y en la intensidad de las lesiones anatómicas.

Conservando el virus en condiciones de máximum de actividad por medio de continuos pasajes sucesivos, se llega á obtener como *regla fija* la muerte de los conejos en 48 horas, por medio de la inyección intravenosa (en una vena marginal de la oreja) de 0.1 cent. cúb. de caldo-cultivo de 24 horas,

La sola diferencia que existe entre el resultado del examen anatómico de la infección por vía subcutánea y el de la infección por vía intravenosa, consiste en el tumor esplénico, que en este último caso es siempre un poco menos pronunciado.

A pesar de esto, pueden considerarse como frecuentes los casos en que se encuentra un gran tumor esplénico como resultado de la infección intravenosa. Además, la distribución de los microbios en los tejidos, no es igual á la ya descrita en los conejos, que mueren por infección subcutánea; en ese

caso hemos visto que los *bacillus icteroides* se reunen en pequeñas aglomeraciones, razón por la cual aparecen en los cortes amontonados en pequeños grupos. En cambio, cuando el conejo muere en 48 horas por inyección intravenosa, los microbios se encuentran en los cortes distribuídos irregularmente entre los tejidos, donde no forman casi nunca reuniones abundantes.

De cuando en cuando se encuentra la enteritis hemorrágica. Una sola vez observé un caso típico de hemoglobinuria; la vejiga urinaria estaba en este caso completamente llena de orina de color rojo - Burdeos, y el examen microscópico no reveló la presencia de glóbulos rojos; se trataba, pues, de pigmento sanguíneo disuelto y filtrado á través del riñón. Este órgano se presentaba, en efecto, en ambos lados gravemente alterado; casi la mitad de estos órganos aparecía extraordinariamente congestionada, de una coloración negruzca y de consistencia blanda.

La constatación de estas lesiones, aunque extremadamente raras, es un argumento más en apoyo de la gran importancia que debe darse á la predisposición individual en la extrinsecación de los fenómenos morbosos debidos á un mismo virus.

3.ª — Infección por las vías respiratorias

Este medio de infección es siempre seguro con respecto al éxito; porque el conejo, como el cobaya, sucumbe invariablemente; pero es más inconstante que los otros en cuanto á la duración de la enfermedad.

En efecto, la misma dosis de 2 - 3 gotas de caldo - cultivo inoculadas directamente en el árbol bronquial, previa traqueotomía, puede matar en 16 horas, lo mismo que en 5 ó 6 días.

En el primer caso las lesiones anatómicas se limitan sólo á pequeñísimos focos de infiltración pulmonar y á congestiones viscerales difusas.

El bazo se presenta, sin embargo, ya tumefacto, y los intestinos distendidos y diarreicos.

En los casos de curso más largo, los pulmones se presentan

edematosos y con múltiples focos de neumonía lobular; á veces se observan también lóbulos pulmonares enteros atacados por verdaderos procesos de hepatización roja: las glándulas linfáticas bronquiales están hipertrofiadas y el tumor del bazo es enorme.

Los resultados del examen bacteriológico son siempre los de una septicemia. El exudado pulmonar es rico en microbios, lo mismo que todos los otros humores del organismo.

Las cavidades serosas, en los casos de curso agudísimo, se encuentran, por lo general, completamente estériles; pero en los que se prolongan algunos días, son invadidas, á su vez, por una cierta cantidad de microbios. Su número es, sin embargo, muy inferior al que se encuentra en las vísceras y en la sangre.

Se repite, pues, en este género de infección, que puede considerarse como uno de los más graves, el mismo hecho ya constatado en la infección amarilla de los ratoncillos y cobayas; es decir, la resistencia de las cavidades serosas á la localización del *bacillus icteroide.*

Resumiendo nuestros resultados respecto á la infección amarillígena en los conejos, encontramos como fenómenos constantes: el curso cíclico de la enfermedad, las adenitis axilares ó inguinales, la hipertrofia de la glándula timo y el tumor esplénico. Además, el virus icteroide es capaz de producir en los conejos la nefritis, la enteritis, la albuminuria y la hemoglobinuria, y, á veces, puede manifestar propiedades hemorragíparas.

D.—LA INFECCIÓN AMARILLA EN LOS PERROS

El perro se presta mejor que cualquier otro animal de laboratorio, para hacer resaltar las estrechas analogías anatómicas y sintomatológicas de la fiebre amarilla experimental con la fiebre amarilla del hombre.

Pero, como no es un animal tan sensible como el cobaya ó el conejo, la inyección del virus debe practicarse por vía intravenosa y en dosis algo elevada, que no es posible determinar de antemano, porque se halla influenciada, en cada caso, por el tamaño, la edad y la raza.

Sin embargo, una vez iniciado el proceso infeccioso, se manifiesta y se desarrolla con tal violencia de síntomas y con un conjunto tal de lesiones, que recuerda el cuadro clínico y anatómico de la fiebre amarilla en el hombre.

Es imposible trazar un cuadro morboso general, como hemos hecho para conejos y cobayas, en los cuales la enfermedad presenta un tipo casi constante.

En los perros, los resultados de la experimentación varían casi caso por caso. Sólo hacen excepción aquellos en los que la muerte sobreviene en 12-24 horas por septicemia agudísima.

Creo, por esto, más conveniente relatar algunas experiencias de las más típicas.

Experiencia I

PERRO DE KILOGRS. 10.200

12 de Agosto. — Temperatura rectal, 38°2. Inyección intravenosa de 10 c. c. de un cultivo en caldo de 24 horas.

Poco después de la inyección, el animal cae presa de un fuerte temblor general; presenta vómitos, diarrea y tenesmo vesical. Después de una hora, no puede sostenerse parado, se manifiesta dispnea, el temblor aumenta, se tira al suelo y cae en coma.

13 de Agosto. — El animal se encuentra en la misma posición que el día anterior y presenta los mismos síntomas. La temperatura rectal es de 39°7; orina mucho y aparece un catarro agudo de las conjuntivas y de la nariz. No toca los alimentos.

14 de Agosto. — Sigue el mismo estado comatoso y de ayuno que en los días precedentes.

15 de Agosto. — Peso, kilogramos 8.400; las condiciones generales empeoran, la adinamia y el ayuno son completos, la diarrea es profusa; sin embargo el animal consigue tragar un poco de agua y vomita rara vez. Queda en este estado durante nueve días, es decir, hasta el 21 de Agosto, época en que aparece una keratitis bilateral: las dos córneas están completamente opacas é infiltradas de pus. Sigue siempre en estado comatoso, interrumpido sólo por violentos y continuos golpes de tos ronca.

El examen de la orina descubre la presencia de una gran cantidad de albúmina.

23 de Agosto. — El animal está completamente ciego y no consigue tenerse en pie todavía; además de la keratitis y de la *bronco-neumonía*, se presenta un violento y agudo *coriza* que impide la respiración por la nariz; el perro se ve obligado á respirar con la boca abierta, y como está tendido en el suelo en estado de continua somnolencia, el cierre instintivo y continuo de las mandíbulas produce á cada momento violentos ataques de asfixia seguidos de accesos de dispnea. Empieza á tomar algún alimento.

Por la nariz fluye una abundante exudación catarral, de color verde claro. Supongo la existencia de pigmentos biliares en la sangre y practico una pequeña sangría de la yugular: el suero separado del coágulo es lactescente y de color verde aceituna. Este color verde aceituna es propio del suero de los convalecientes ó de algunos enfermos de fiebre amarilla en los que la ictericia está muy desarrollada.

27 de Agosto. — Peso, kilogramos 6.800. — Temperatura rectal, 39°2; el ojo derecho está curado de la keratitis, pero el izquierdo presenta todavía la córnea infiltrada, con pus en la cámara anterior.

1.° de Septiembre. — Peso, kilogramos 7.020. — La temperatura ha vuelto á ser casi normal (38°7), pero el estado general del animal es siempre malo. Está tendido en el suelo, la tos es continua, el catarro nasal es cada vez más abundante, la respiración es sumamente dispneica, la debilidad es extrema. En este estado sigue casi sin variación hasta el

15 de Septiembre. — Peso, kilogramos 7.540. — Temperatura rectal, 38°5. Las articulaciones de las extremidades anteriores están tumefactas, inflamadas y dolorosas. El examen de la orina demuestra siempre la presencia de grandes cantidades de albúmina. Con todo, el estado general no tiende á mejorar sino hacia el 28 de Septiembre, es decir, 46 días después del principio de la enfermedad.

Poco á poco el perro comienza á moverse y á alimentarse con más abundancia, no tiene fiebre y los ojos están del todo curados. Persisten, sin embargo, las tumefacciones articulares.

El 14 de Octubre siguiente, esto es, 63 días después de la inyección del virus y 16 días después de entrado en franca convalecencia, practico una nueva sangría y separo del coágulo un suero *lactescente* (análogo al señalado recientemente en el hombre nefrítico), pero sin pigmentos y dotado de un débil poder preventivo en los animales.

El perro ha seguido vivo y fué destinado á la vacunación. El 9 de Marzo de 1897, esto es, después de 7 meses, pesaba ya 14.800 kilogramos y había recibido en conjunto por inyección intravenosa 300 centímetros cúbicos de cultivo en caldo y varios cultivos en gelosa.

Experiencia II

PERRO JOVEN DE KILOGRS. 5.120

1.º de Septiembre. — Temperatura rectal, 38º6. — Inyección intravenosa de un cultivo en gelosa diluído en 1 c. c. de cultivo en caldo.

Inmediatamente después de la inyección, el perro comienza á vomitar todo el contenido del estómago, y después de cerca de una hora cae en coma profundo.

Muere en la noche del mismo día.

AUTOPSIA

En la *cavidad torácica,* nada de particular; *cavidad abdominal: bazo* é *hígado* muy congestionados; *estómago* dilatado y lleno de un líquido sanguinolento; la mucosa gástrica tumefacta y tan congestionada, que presenta la coloración rojo-vinosa característica de la gastritis aguda general. Todo el tractus intestinal presenta la mucosa igualmente tumefacta, enrojecida y del mismo color de la mucosa gástrica; en muchos puntos se observan equimosis, y el contenido del intestino delgado está representado por una enorme cantidad de mucus y sangre.

Se trata, pues, de una verdadera enteritis hemorrágica de las más graves.

Los cultivos demuestran la presencia del *bacillus icteroide* en todos los órganos y en cantidad innumerable.

Experiencia III

PERRO DE KILOGRS. 7.800

2 de Septiembre (11 a. m.). — Inyección intravenosa de un cultivo en gelosa diluído en 1 c. c. de caldo-cultivo.

(1 p. m.). — El perro ha vomitado abundantemente, está agazapado y presenta una respiración acelerada y dispneica.

(2 p. m.) — Está siempre echado y se queja de continuo, agitado por un temblor general.

Las mandíbulas están separadas, y por la lengua, que cuelga, corre abundante líquido gástrico mezclado con sangre.

Hay intensa fotofobia.

(A las 2.30 p. m.). — El perro sigue emitiendo gritos lastimeros, está completamente postrado; estira el cuello para respirar más libremente, como si estuviera amenazado de asfixia; se presenta diarrea sanguinolenta.

(A las 2.40 p. m.). — Muere.

AUTOPSIA

Cavidad torácica: pulmones con manchas equimóticas; *cavidad abdominal: bazo* algo congestionado; *hígado* con numerosas manchas amarillentas; el examen microscópico practicado sobre la pieza fresca, gracias al uso del ácido ósmico, descubre las células hepáticas ya ricas en gotas de grasa!; los *riñones* están congestionados; el *estómago* tiene la mucosa extraordinariamente tumefacta y tan congestionada, que presenta un color rojo-vinoso muy marcado y generalizado; los *intestinos* presentan en todo su trayecto la mucosa de un color rojo-escarlata, tumefacta, cubierta de exudación catarral, y en muchos puntos hemorrágica; observadas externamente, las paredes intestinales no presentan nada de anormal.

Los cultivos descubren la presencia de gran cantidad de *bacillus icteroides* en todos los órganos, pero sobre todo en el bazo.

Experiencia IV

PERRO DE KILOGRS. 8.000

3 de Septiembre (11 a. m.). — Inyección intravenosa de 5 c. c. de caldo-cultivo.

(1 p. m.). — El animal está triste, presa de un temblor general y de violentos conatos de vómito. Ya ha vaciado completamente el contenido gástrico (cerca de 1.000 gramos de alimentos semi digeridos).

(6 p. m.). — Los conatos de vómito se hacen menos frecuentes, pero el animal está completamente extenuado.

4 de Septiembre. — Las condiciones generales han mejorado, pero sigue la adinamia y la completa abstención de alimentos.

En los días siguientes no se nota nada nuevo en el estado general, siempre malo.

La disminución de peso del cuerpo es progresiva y constante. El 15 de Septiembre el peso ha bajado á kilogrs. 6.440 y las deyecciones están manchadas de sangre.

19 de Septiembre. — El peso ha disminuído todavía hasta kilogrs. 5.540 y comienzan á presentarse continuas enterorragias que se repiten los días siguientes hasta el día 25, en que el animal muere, habiendo disminuído de peso hasta 5.010 kilogramos.

AUTOPSIA

Cavidad torácica: los *pulmones* normales; la *sangre* del corazón, muy espesa y semi coagulada, presenta una consistencia y color semejantes al alquitrán de Noruega.

Abdomen: el *hígado* color de *hoja muerta,* con numerosísimas manchas de varios tamaños de color *piel de gamuza.*

El examen microscópico en pieza fresca por medio del ácido ósmico, no sólo demuestra que *todas las células hepáticas* se hallan atacadas de degeneración grasa extraordinariamente intensa y difusa, sino que descubre también muchas grandes gotas de grasa libres, de modo que el ácido ósmico concluye por ennegrecer toda la preparación; el *bazo* se halla algo aumentado, fláxido y desmenuzable fácilmente; los *riñones* presentan los signos de una nefritis grave con degeneración grasa extendida, visible á simple vista por el aspecto casi amarillento del parénquima; la *vejiga urinaria* está completamente contraída y contiene pocas gotas de orina fuertemente albuminosa; el *estómago* y los *intestinos* llenos de un líquido color café; en las partes superiores del intestino delgado la mucosa está recubierta de un abundante catarro de color amarillento; pero con excepción de algunos puntos atacados de inflamación catarral más ó menos intensa, las paredes intestinales tienen un aspecto casi normal.

Los cultivos de sangre y de vísceras dan por resultado la presencia de gran cantidad de *bacillus icteroides* mezclados con *colibacillus.*

El análisis químico de la sangre reveló una cantidad de urea igual á 4.27 ‰.

EXPERIENCIA V

PERRO DE KILOGRS. 3.630

8 de Septiembre (10 a. m.). — Inyección intravenosa de un cultivo en gelosa diluído en caldo.

Dos horas después de la inyección el animal ha vomitado todo su contenido gástrico. A las 4 p. m. está malísimo; tiene fotofobia, vomita continuamente y tiene diarrea sanguinolenta: adinamia completa.

Muere durante la noche.

AUTOPSIA

Tórax: congestión pulmonar. *Abdomen: bazo* grande, negro, turgente, friable; *hígado* exangüe, seco, con zonas de degeneración grasa y con varios puntos equimóticos; en el *estómago,* la mucosa color rojo vinoso y con vastas equimosis submucosas, presenta el aspecto de la gastritis hemorrágica agudísima: todo el *canal intestinal* presenta la mucosa en el mismo estado, es decir, tumefacta, color rojo vinoso, con muchas equimosis y con todos los caracteres de la enteritis aguda producida por el cianuro de potasio.

El contenido intestinal está formado por gran cantidad de mucus y de sangre; el *intestino grueso* está lleno, además, de una gran cantidad de materia viscosa, color chocolate, con estrías sanguinolentas; los *riñones* están congestionados; la *vejiga* contraída y vacía de orina.

Los cultivos demuestran la existencia de grandes cantidades de *bacillus icteroides* en los órganos y de muy pocos en la sangre.

EXPERIENCIA VI

PERRO DE KILOGRS. 4.650

9 de Septiembre (10 a. m.). — Inyección intravenosa de 2 c. c. de caldo-cultivo.

Algunas horas después de la inyección, el animal empieza á tener

conatos de vómito y concluye por arrojar todo el contenido gástrico, quedando abatido y adinámico. En los días siguientes vuelve casi á su primitivo estado general satisfactorio, no obstante mantenerse la temperatura en 40° durante casi cuatro días seguidos.

El peso del cuerpo disminuye sensiblemente.

19 de Septiembre. — Pero después de 10 días sólo ha bajado á kilogrs. 4.080; la fiebre ha desaparecido por completo y el estado general es excelente, por lo que practico una segunda inyección de 2 c. c. de caldo - cultivo.

Después de esto el peso del animal disminuye de nuevo rápidamente; el estado general se agrava; sobre todo la adinamia se acentúa cada vez más, y el 24 aparece diarrea sanguinolenta.

26 de Septiembre. — El 26 el animal está postrado sin fuerzas y muy mal; el 27 está echado, inmóvil en su jaula, en coma profundo, interrumpido sólo por gemidos y accesos de dispnea.

28 de Septiembre. — Sobreviene la muerte.

AUTOPSIA

Tórax: pulmón izquierdo algo congestionado; *sangre* del corazón en gran parte líquida y muy pálida. *Abdómen: hígado* grueso, voluminoso, seco, de color rojo tendiendo al anaranjado (semejante al hígado fosfórico), con muchas manchas de color amarillo. El examen microscópico hecho sobre el órgano fresco constata la degeneración grasa muy extendida, difusa, de todas las células hepáticas; la *vesícula biliar* está intacta y contiene bilis muy consistente de color amarillo de oro; *bazo* engrosado, tumefacto, rojo obscuro, desmenuzable; ambos *riñones* presentan todos los caracteres microscópicos del *gran riñón blanco;* en la superficie se observan algunas manchas hemorrágicas, y al corte se ve el parénquima blanco sucio, anémico, muy poco resistente; la *vejiga urinaria* completamente contraída; sólo por medio de una pipeta consigo recoger algunas gotas de orina límpida, pero que se coagula completamente por el calor; la *mucosa gastrointestinal* no presenta ni congestiones ni hiperhemias de ninguna clase, pero está tumefacta, de color gris sucio y atacada de un proceso catarral evidente, cuyo abundante exudado llena casi por completo el tubo digestivo, vacío de sustancias alimenticias.

Los cultivos hechos con la sangre y los órganos demostraron una cantidad innúmera de *bacillus icteroides.*

La sangre contiene el 3.15 ‰ de urea.

Experiencia VII

PERRO DE KILOGRS. 3.330

10 de Octubre (10 a. m.). — Inyección endovenosa de 2 c. c. de caldo-cultivo. En las primeras horas siguientes á la inyección el animal presenta los síntomas ya observados en las otras experiencias; esto es: adinamia, vómito, tenesmo vesical y diarrea.

La temperatura de 38°6 sube á 40°-40°7 y sigue así elevada hasta el día 13. El 14 y 15 está en 39°7; el 16 vuelve á subir á 40°. Como el 17 bajó á 39°1, practico una nueva inyección endovenosa de 5 c. c. de caldo de cultivo.

18 de Octubre. — Sobreviene la muerte, precedida de vómitos sanguíneos y enterorragias.

AUTOPSIA

Tórax: nada de notable. — *Abdomen:* el *hígado* está intensamente degenerado y sembrado de manchas pálidas color de *hoja muerta*. El examen microscópico en fresco con ácido ósmico, demuestra una degeneración grasa difusa de todas las células hepáticas; el *bazo* se halla engrosado y presenta varias manchas de infartos sanguíneos; los *riñones*, con los caracteres de una nefritis aguda bastante intensa; la *vejiga urinaria*, contraída, contiene sólo algunas gotas de orina completamente albuminosa; el *estómago* dilatado y la mucosa tumefacta y de color rojo-sangre; los *intestinos*, llenos de un catarro blanco-amarillento, presentan también la mucosa algo espesada y de color rojo-escarlata.

Los cultivos demuestran la ausencia de microbios en la sangre y en la orina y de escaso número de ellos en el hígado y en el bazo.

Experiencia VIII

PERRO DE KILOGRS. 4.060

19 de Octubre (9 a. m.).—Temperatura rectal, 38°5. Inyección intravenosa de 5 c. c. de caldo-cultivo.

Después de la inyección el animal presenta los síntomas generales ya descritos, pero al anochecer se repone algo.

En los días siguientes, á pesar de la temperatura, que oscila siempre entre 39°7 y 40°, y de una disminución constante en el peso del cuerpo, presenta un estado general satisfactorio,

23 de Octubre.—Pero 8 días después de la inoculación, el perro comienza á agravarse: presenta diarrea, somnolencia, fotofobia y *vómito color café.*

24 de Octubrè. — Cae en estado comatoso profundo y el 25 muere.

AUTOPSIA

Tórax: los *pulmones* se presentan equimóticos en algunos puntos. *Abdomen:* el *hígado* es de color amarillento, sembrado de manchas color gamuza. El examen microscópico del tejido fresco hace ver las células completamente llenas de pequeñas gotas de sustancia grasa; el *bazo* es pequeño, seco, consistente, con algunos infartos hemorrágicos; los *riñones* presentan una nefritis parenquimatosa difusa; la *vejiga* está contraída y contiene cerca de 1 centímetro cúbico de orina, fuertemente albuminosa; el *estómago* y los *intestinos* están completamente llenos de una gran cantidad de líquido *color café,* que al examen microscópico aparece constituído por bacterios de varias especies, girones de epitelio, glóbulos y pigmento sanguíneos. La mucosa del intestino delgado, en toda su extensión, está tumefacta, de color chocolate, con extensas equimosis y cubierta de una capa mucosa espesa y resistente, color rojo café. En varias porciones las *placas de Peyer aparecen enormemente tumefactas, prominentes y ulceradas;* al rededor de ellas existe una vasta é intensa infiltración hemorrágica.

Los cultivos de la sangre y de los distintos órganos dan por resultado la presencia del *bacillus icteroide* mezclado al *streptococcus.* Este último predomina en el bazo y en la sangre y se encuentra en menor cantidad en el hígado y riñón.

La sangre contiene 2.46 °/oo de urea.

El *estudio histológico de las lesiones anatómicas* tiene una gran importancia en la fiebre amarilla experimental del perro, porque sus resultados son idénticos á los que se obtienen en el estudio de las lesiones anatómicas de la fiebre amarilla en el hombre.

En el perro, como en el hombre, la esteatosis de los órganos y sobre todo de la célula hepática, constituye una alteración específica y constante.

Hemos visto ya cuán fácil es constatar esta gravísima degeneración aún por medio de un simple examen practicado sobre el órgano fresco.

En los cortes de órganos fijados por el líquido de Flemming, el aspecto de los tejidos es perfectamente idéntico al que se observa en el hombre.

Á veces la esteatosis en el perro es mucho más grave que la que yo he podido observar en el hombre.

El *hígado* es — como se comprende — el órgano atacado por elección. La alteración anatómica que llama inmediatamente la atención, es una dilatación capilar tan exagerada en algunos puntos, que casi semeja un tejido angiomatoso. Los cortes de vasos afectan formas variadísimas é irregulares, y en los puntos de confluencia se encuentran á menudo grandes lagunas. Las columnas hepáticas, interpuestas á los capilares, están reducidas á veces á delgadas trabéculas constituídas por células fuertemente alteradas en la forma, casi siempre disminuídas de volumen, turbias, granulosas, y en algunas partes completamente deshechas y convertidas en masas globulosas irreconocibles. Los núcleos por lo general se colorean poco (coloración á la safranina) y aparecen muy pálidos, unas veces hinchados, otras atróficos. El protoplasma celular está completamente alterado, ha perdido su aspecto granuloso y presenta una degeneración grasa tan grave y difusa, que sólo tiene comparación con la que se observa en el hombre ó en los envenenamientos por el fósforo.

Todas las células están atacadas, aunque en grado variable.

En algunas, la degeneración se manifiesta bajo forma de pequeñas granulaciones negras; en otras aparecen como grandes gotas de sustancia grasa, que concluyen por llenar todo el retí-

culo celular; en otras, en fin, la esteatosis es tan completa, que toda la célula está representada por una mancha negra uniforme, de contornos algo sinuosos, y á veces con un agujero circular en la parte central, que representa el núcleo incoloro ó destruído. El aspecto de estas *células grasas* puede compararse al de ciertas células nerviosas coloreadas en negro con el método osmio-bicrómico de Golgi.

Observando los cortes con pequeño aumento, la intensidad del proceso esteatógeno aparece más clara aún. El tejido hepático parece como formado por un retículo irregular, constituído por los elementos hepáticos, cuyas mallas se presentan á veces en grandes extensiones, completamente ennegrecidas por el ácido ósmico, de tal modo que la preparación toma un aspecto muy singular, que la figura anexa hará comprender mejor que cualquiera descripción.

Se trata de enteras series de células hepáticas completamente transformadas en una aglomeración de sustancia grasa, que unas veces conserva la forma de las células primitivas y en otras se convierte en un conjunto de grandes gotas de grasa.

La analogía de este proceso esteatógeno debido al *bacillus icteroide,* con el del envenenamiento fosfórico, no puede ser más evidente.

Para mejor establecer las comparaciones, he determinado en los perros — como en los cobayas y conejos — envenenamientos fosfóricos administrando el veneno por la vía gástrica.

Con verdadera sorpresa he observado que, en dos de estos animales envenenados con fósforo y muertos á los dos días de la administración del veneno, la esteatosis del hígado era mucho menos acentuada que la que se observa en la infección icteroide; con efecto, las gotas de grasa eran muy escasas y se veían distribuídas entre las células más bien que en el protoplasma mismo. La célula hepática apareció en general muy respetada.

Después del hígado, en la infección icteroide del perro, merecen ser tomados en consideración los *riñones.*

Aquí también el proceso degenerativo asume proporciones bastante graves, aunque menos acentuadas que en el hígado.

Las células de los canalículos uriníferos, están en general, ora turbias y granulosas, ora homogéneas y con aspecto de masas informes. En muchas partes el epitelio está atacado por un verdadero proceso de necrosis, razón por la cual aparecen las células completamente deshechas y sin núcleo.

La luz de los canalículos urinarios contiene á menudo cilindros epiteliales, leucocitos, cilindros hialinos y granulosos, formados por albúmina trasudada y residuos celulares.

La mayor parte de los núcleos preexistentes tienen una marcada incapacidad para colorearse. Se observan á menudo, como en el hígado, figuras nucleares raras, que deben, sin duda alguna, atribuirse á procesos de kariolisis. La degeneración grasa no es tan grave ni generalizada como en el hígado, pero es en algunos puntos tan bien marcada, que se observan á veces enteros cortes de canalículos cuyo epitelio necrosado contiene diseminadas una inmensa cantidad de gotas de grasa de todas dimensiones. En este caso la degeneración adiposa toma el aspecto que ha sido ya descrito por varios autores en la intoxicación diftérica grave.

Los glomérulos, en cambio, parecen mucho mejor conservados; pero, como lo hemos observado ya en el hombre, la cápsula contiene á menudo masas hialinas y granulosas, formadas evidentemente por albúmina coagulada.

El tejido conectivo intertubular participa, en general, muy poco del proceso tóxico; sin embargo, sus vasos están siempre anormalmente dilatados. Además, en algunos puntos de la preparación se observan infiltraciones leucocitarias intertubulares en focos, reconocibles con pequeños aumentos.

El examen de los *riñones* en el envenenamiento fosfórico de los perros, en oposición de lo que hemos observado para el hígado, presenta lesiones de degeneración mucho más acentuadas que las que se encuentran en la infección icteroide. En efecto, la mayor parte del epitelio renal está poco alterado, pero se encuentran algunos canalículos tan degenerados, que en los cortes — fijados previamente con ácido ósmico — aparecen como si estuvieran completamente llenos de innumerable cantidad de gotas de grasa de todas dimensiones.

Con relación al *bazo*, excepción hecha de raras células llenas de gotitas de sustancia grasa, el examen histológico no descubre nada que pueda tener interés del punto de vista de nuestras investigaciones.

El examen histológico de la *mucosa gastro-intestinal* presenta gran interés en la fiebre amarilla del perro, porque — como lo hemos descrito — sus alteraciones macroscópicas son las que más se acercan á las de la fiebre amarilla humana.

Sobre todo, deben fijar nuestra atención las lesiones gástricas.

La superficie de la mucosa gástrica se encuentra siempre, como en el hombre, cubierta por una capa formada por mucus, elementos epiteliales degenerados y leucocitos. El epitelium cilíndrico de los vestíbulos glandulares y de la superficie interna del estómago, falta en algunos puntos, y en el resto presenta los estadíos más avanzados de la metamorfosis mucosa.

Cada una de las células presenta en su borde libre un abultamiento esférico terminal que se colorea ligeramente en rosa por la safranina, y cuyo conjunto da á toda la superficie de la mucosa un aspecto tan original, que parece estuviera cubierta por órganos semejantes á los conidios de un aspergillus.

El epitelium de las glándulas pépsicas es más granuloso que de costumbre, y el conectivo interglandular presenta sus vasos tan extraordinariamente repletos de sangre, que en algunos puntos sus desgarros han dado lugar á extensas infiltraciones hemorrágicas submucosas, en medio de las cuales se encuentran también algunos elementos conectivos llenos de gotitas adiposas.

La fiebre amarilla experimental reproduce en los perros un cuadro morboso, que no solamente presenta, del punto de vista anatómico y sintomatológico, las más estrechas analogías con la fiebre amarilla del hombre, sino que nos ayuda admirablemente á interpretar ciertos hechos que en esta última podían considerarse, hasta ahora, como de difícil explicación.

En efecto, comenzando por el *vómito*, que representa el síntoma culminante de la infección icteroide, vemos que en el perro se produce de una manera constante, cada vez que entra en la circulación el veneno amarillígeno. Éste funcionaría, pues, en

el organismo como un principio emético muy activo, comparable, por ejemplo, á la apomorfina.

En cuanto á las gastrorragias y enterorragias, es evidente su origen en los perros, por las graves alteraciones que se producen á lo largo de toda la mucosa del tubo digestivo.

Esta mucosa, por efecto del veneno amarillígeno que circula en la sangre, es asiento de procesos congestivos primero, y después necróticos, tan graves y difusos, que determinan la rotura de las paredes vasales, explicando de una manera más que suficiente las hemorragias consiguientes.

Se trata, también aquí, de una función eminentemente hemorragípara del veneno específico, que tiene su punto de elección sobre todo en la mucosa gástrica, y que es comparable — bajo ciertos aspectos — á la que ha sido descrita por mí y por otros observadores en algunos venenos microbianos (veneno tífico, piociánico, etc.), ó en ciertos venenos de la sangre (cianuro de potasio, etc.).

También la *ictericia,* que nunca se consigue provocar en los pequeños roedores, hemos podido observarla en un perro.

Es cierto que este síntoma, tan común en el hombre, encuentra dificultades para reproducirse regularmente en los animales; pero su patogenia no ha sido todavía bien definida por la patología. Es de suponerse que esté en relación con la lesión y dislocación consiguiente de las células que constituyen la trama hepática, y que, por consiguiente, deba ser considerado como una ictericia por reabsorción.

Sin embargo, debo confesar que me ha sucedido lo que á otros investigadores; es decir, que tanto en las serosidades como en la orina de animales y de individuos completamente ictéricos ó muertos de fiebre amarilla, no he conseguido, la mayor parte de las veces, ni aún empleando los procedimientos de análisis más delicados, poner en evidencia la reacción del pigmento biliar.

Esto viene, quizás, en apoyo de la opinión de algunos observadores, según los cuales la ictericia de la fiebre amarilla no sería debida á la sufusión biliar, sino á la misma materia colorante de la sangre transformada en *hemafeína.*

En la duda, considero por ahora oportuno pasar por alto esta cuestión, para detener más bien la atención sobre las alteraciones renales que desempeñan en los perros, como en el hombre, una parte tan preponderante en el cuadro morboso.

En efecto, después del elemento hepático, el elemento renal representa, lo mismo en el hombre que en el perro, el punto más vulnerable del organismo.

Los procesos inflamatorios y de degeneración adquieren allí una intensidad tan excepcional, que explican por sí solos la albuminuria primero, y la anuria después, que preceden casi constantemente á la muerte. Esta última, en el perro como en el hombre, es precedida generalmente por un estado comatoso, más ó menos largo, debido en parte á la intoxicación urémica que se agrega á la intoxicación amarilla.

La sangre de los perros contiene, en efecto, después de la muerte, cantidades de urea bastante considerables (4.27 - 3.15 - 2.46 °/₀₀) é iguales, poco más ó menos, á las que se encuentran en los casos más graves de fiebre amarilla en el hombre.

Del punto de vista anatómico, muy poco tenemos que agregar á lo descrito en el resumen de nuestras observaciones histológicas.

La esteatosis general de los órganos, sobre todo del hígado y de los riñones, establece entre la fiebre amarilla del perro y la humana, relaciones tan estrechas, constantes y específicas, que podemos sin ambages proclamar su absoluta identidad.

Por último, es notable la extremada rapidez de acción del veneno amarillo sobre la célula hepática, la cual puede presentar á las pocas horas, una muy marcada degeneración grasa. (Véase Experiencia III.)

Lo que no me ha sido posible establecer con exactitud en los perros, es la dosis mortal fija, capaz de producir el proceso morboso cíclico tan característico y tan análogo al humano, que hemos descrito en cobayas y conejos; pero esta dificultad encuentra fácil explicación en las consideraciones que antes hicimos, respecto á la imposibilidad de obtener siempre animales de la misma talla, de la misma edad y de la misma raza.

Hay algo que reclama todavía nuestra atención en el estudio de la fiebre amarilla canina: y es el resultado del examen bacteriológico.

En la mayor parte de los casos el *bacillus icteroide* se encuentra en la sangre y en los órganos en cantidad variable, pero en estado de pureza absoluta. Una que otra vez, sin embargo, se encuentra asociado, como en el hombre, al *colibacillus* ó al *streptococcus*.

Esta tendencia á las invasiones microbianas secundarias la estableceremos oportunamente, estudiando la intoxicación amarilla en los perros, producida únicamente por los cultivos filtrados. Y como, por otra parte, no pueden atribuirse estas infecciones á fenómenos *post mortem,* porque las autopsias se efectuaron siempre poco después de la muerte, debe admitirse que el veneno amarillígeno, sea por sí mismo, sea por las alteraciones que produce en varios órganos, y sobre todo en el hígado, favorece las infecciones secundarias que quizá tienen su punto de origen en el mismo tubo intestinal.

El hígado es, en efecto, considerado universalmente como un órgano de defensa contra los microbios.

Considerando, pues, el conjunto de los resultados que se obtienen en el estudio de la infección amarilla en los perros, resulta que es posible obtener en estos animales los síntomas y las lesiones principales que constituyen el cuadro morboso específico del hombre (1).

(1) Esta fenomenología característica, provocada por la infección icteroide en los perros, encontraría comparación exacta con algunas interesantes observaciones de varios autores, quienes durante graves epidemias de fiebre amarilla habrían observado la presencia en estos animales de todos los síntomas de la enfermedad, incluso el vómito de sangre. (Véase González: *Ueber das gelbe Fieber welches in Cadiz* etc.—*Ueber*, v. Borges, *1805.*—Imray: *Edimburg med. a. surg. Journal, vol. 53 - 64 - 70, 1840 - 48;* y Blair, *Some account on the last yellow fever epidemie of Brit Guiana.* London, 1850.)

E. — LA INFECCIÓN AMARILLA EN LOS MONOS

El mono me ha parecido un animal algo infiel en la experimentación del virus icteroide.

Sobre siete animales inoculados bajo la piel con 1 c. c. de cultivo en caldo, solamente tres murieron después de 8 días justos de enfermedad. Los otros cuatro, después de haber presentado una intensa tumefacción en el punto de la inyección y un notable enflaquecimiento, sin ir acompañado de ningún síntoma característico, se restablecieron por completo.

Presentando cada una de las tres experiencias con resultado positivo, particularidades dignas de notarse, creo útil resumirlas brevemente cada una en particular:

EXPERIENCIA I

MONO DEL PARAGUAY, DE 540 GRAMOS

(Cebus Fatuellus)

6 de Mayo de 1896. — Inyección subcutánea de 1 c. c. de caldo de cultivo de 24 horas.

Algunas horas después de la inoculación, el animal se encuentra triste, y la temperatura, que normalmente oscila entre 38°4 - 38°8, llega á 39°9 y á la mañana siguiente á 40°1.

Comienza un rápido enflaquecimiento diario, y el 14 del mismo mes — 8.° día de enfermedad — muere en coma, después de un largo período agónico caracterizado por la regurgitación del contenido del estómago y de algo de enterorragia.

AUTOPSIA

(Hecha inmediatamente después de la muerte)

Peso del cadáver, 470 gramos. — Nada de particular en la cavidad torácica. — *Abdomen: hígado* tumefacto, congestionado y muy friable;

el examen microscópico del órgano fresco revela sólo la existencia de una degeneración granular difusa de todas las células hepáticas; congestión y tumefacción del *bazo* y de los *riñones; tubo gastro-intestinal* casi normal, con algunas equimosis de la mucosa; poca orina, límpida y no albuminosa, en la *vejiga urinaria.*

El examen bacteriológico da el siguiente resultado: los cultivos preparados con la sangre estaban completamente constituídos por el *staphilococcus aureus;* los del hígado, del bazo, de los riñones y de la orina resultaron mezclas de *staphilococcus aureus* y *bacillus icteroides* en cantidad casi igual.

El pericardio y el peritoneo, estériles.

El único hecho que merece llamar la atención en este caso tan poco demostrativo, es la infección mixta hallada en la autopsia. No pudiéndose tratar de una infección *post-mortem,* porque la autopsia fué practicada inmediatamente después de la muerte del animal, hay que aceptar que también en el mono, como en el hombre y en el perro, la infección icteroide predispone al organismo á las infecciones secundarias de los *pyogenes.*

Experiencia II

MONO COMO EL ANTERIOR, DEL PESO DE 710 GRAMOS

1.º de Diciembre.—Inyección subcutánea de 1 c. c. de caldo-cultivo de 26 horas.

El animal muere al 7.º día, después de haber disminuído progresivamente de peso hasta 580 gramos.

AUTOPSIA

(Hecha inmediatamente después de la muerte)

Tórax: pulmones en parte sanos y en parte fuertemente edematosos: abundante derrame seroso en la cavidad pleural derecha; *corazón* fláxido, casi exangüe, degenerado. *Abdomen: estómago* é *intestinos* llenos de líquido diarreico, pero de aspecto casi normal; *hígado* de *color ama-*

rillo, completamente exangüe, semejante á un pedazo de manteca. Solamente hacia los bordes se observa una ligera arborización de color rojo que contornea perfectamente los espacios interlobulares.

El examen microscópico hecho en fresco con ácido ósmico, demuestra la *completa degeneración grasa de todas las células hepáticas.* El *bazo* está un poco tumefacto, pero de aspecto normal; los *riñones,* pálidos y exangües, producen la impresión del *gran riñón blanco;* la *vejiga urinaria,* contraída, contiene sólo 2 ó 3 gotas de orina turbia, lactescente, que se coagula por completo por la acción del calor; los *ganglios linfáticos* axilares é inguinales tumefactos.

El resultado bacteriológico fué el siguiente: pocos *bacillus icteroides* en la sangre y en los riñones, abundantes en el hígado, innumerables en el bazo y ninguno en la orina.

La particularidad notable de esta autopsia ha sido, pues, *una esteatosis del hígado tan intensa y general como yo nunca había visto, ni en el cadáver humano, ni durante el curso de todas mis experiencias anteriores* sobre los animales.

Después de haberlo fijado en soluciones de formaldehido y de alcohol, conservo esta víscera con el mismo aspecto y color en una mezcla de agua y glicerina.

Experiencia III

MONO COMO EL ANTERIOR, DE 850 GRAMOS

3 de Diciembre. — Inyección subcutánea de 1 c. c. de caldo-cultivo de 24 horas.

El animal disminuye de peso rápidamente, presentando, como el precedente, una marcada elevación febril (40°8) durante las primeras 24 horas, y concluye por morir el 14.° día (17 de Diciembre), sin presentar ningún síntoma que merezca consignarse.

AUTOPSIA

(Efectuada en seguida de la muerte)

Peso del cadáver, 695 gramos.

Tórax: pulmones algo congestionados, trasudado cetrino en las pleuras; *corazón* pálido, líquido del pericardio aumentado. *Abdomen: estómago* é *intestinos* pálidos, pero normales; *hígado* aumentado de volumen, exangüe, seco, de color oscuro, con evidentes manchas de degeneración grasa. El examen microscópico del órgano fresco, descubre —en efecto—gotas de grasa libres y una degeneración granulo-adiposa bastante pronunciada de todos los elementos hepáticos; el *bazo* tiene aspecto normal; los *riñones* pálidos; la *vejiga* contiene muy poca orina, clara, albuminosa.

Los cultivos demuestran la presencia del *bacillus icteroide* en grandes cantidades en la sangre y en los órganos.

El resultado de estas pocas experiencias no puede autorizarnos para trazar el tipo morboso de la fiebre amarilla en el mono; no obstante, el excepcional dato anatómico de la Experiencia II — que indudablemente podía repetirse si fuera posible experimentar sobre mayor número de animales de la misma especie — nos revela otra vez, con una demostración de las más hermosas é impresionantes, el enérgico poder esteatógeno del veneno icteroide.

Durante el curso de algunas investigaciones comparativas que he querido seguir acerca de la intoxicación fosfórica, he tenido ocasión de observar, sobre todo en perros y conejos, degeneraciones del hígado realmente notables; pero debo declarar que ninguna de ellas podía compararse en su aspecto exterior á la observada en el mono antedicho.

F. — LA INFECCIÓN AMARILLA EN LA CABRA Y EN EL CARNERO

No he insistido con experiencias sistemáticas sobre estos animales, porque no he creído necesarias nuevas confirmaciones

experimentales para poder establecer é ilustrar la acción específica del *bacillus icteroide.*

Con todo, aunque no sea sino á título de contribución, haré breve mención de una cabra y un carnero muertos accidentalmente de infecciones generales en el curso de algunas tentativas de vacunación, que desde hace tiempo vengo practicando en los animales.

CABRA LECHERA DE KILOGRS. 34.480

El 2 de Agosto comenzó á ser inoculada bajo la piel con 1 c. c. de cultivo filtrado. Sucesivamente fuése aumentando la dosis inyectada, de tal modo que el 20 de Octubre había recibido 195 c. c. de toxina, con una disminución de peso de cerca de 4 kilogramos.

Del 24 de Octubre al 21 de Noviembre, el animal recibió en conjunto, por inyecciones subcutáneas, 10 c. c. de caldo-cultivo virulento, que toleró perfectamente bien. El 24 de Noviembre se le inocularon por inyección intravenosa 5 c. c. de caldo - cultivo. Al día siguiente la cabra cayó enferma y murió el día 27.

El peso del cadáver era de kilogrs. 28.600.

AUTOPSIA

Tórax: la cavidad pléurica contiene gran cantidad de exudado seroso, amarillento, transparente; los *pulmones* extraordinariamente edematosos; el *corazón* fláxido y degenerado. *Abdomen:* abundante exudado seroso en la cavidad peritoneal; el *canal digestivo* tiene el aspecto normal, pero el *hígado* presenta todos los signos de una degeneración grasa medianamente difundida; *bazo* de aspecto normal; los *riñones* con los caracteres de una glomérulo - nefritis muy intensa; la *vejiga urinaria* contraída y con pocas gotas de orina turbia muy albuminosa.

Los cultivos de la sangre, lo mismo que de los órganos y de la orina, resultaron un verdadero puré de microbios. Sólo los exudados pleurítico y abdominal los contenían en cantidad limitada.

El análisis químico del exudado pleurítico descubrió la presencia de grs. 4.05 de urea por mil!

CARNERO JOVEN, DEL PESO DE KILOGRS. 22.800

El 5 de Septiembre empezó á recibir, por vía subcutánea, pequeñas dosis de cultivos filtrados, que se fueron poco á poco aumentando hasta el 10 de Octubre, en cuya fecha el animal pesaba kilogrs. 17.800 y había recibido en todo 115 gramos de toxina.

Como á pesar de la disminución de peso, el animal se presentaba en muy buenas condiciones generales, el 12 de Octubre se le inocularon por vía subcutánea 10 c. c. de caldo-cultivo virulento.

Esta inyección fué tan bien tolerada, que el animal empezó á aumentar de peso; se le repitió ocho veces, de modo que el 21 de Noviembre el carnero había recibido la inyección subcutánea total de 125 c. c. de cultivo filtrado y 121 c. c. de cultivo virulento.

El 24 de Noviembre se practica una inyección endovenosa de 5 centímetros cúbicos de caldo-cultivo fresco, y como parecía que el animal la había tolerado bien, se le repitió el 1.° de Diciembre con la dosis de 10 c. c.

Al día siguiente el carnero murió.

AUTOPSIA

(Verificada en seguida de la muerte)

Tórax: exudado pleurítico abundante, de color amarillo intenso; *edema pulmonar* extraordinariamente desarrollado y difuso. *Abdomen: aparato digestivo* de aspecto casi normal, presentando enteritis sólo en pequeños trechos; *hígado* pálido, pero aparentemente no degenerado; *bazo* pequeño y fláxido; *riñones* muy congestionados; *vejiga urinaria* contraída, conteniendo pocas gotas de orina, límpida y sin albúmina.

Los cultivos de la sangre y del exudado pleurítico resultaron estériles; los del hígado, del bazo y de los riñones dieron mezclas de *bacillus icteroides* y *streptococcus;* la *orina* dió cultivos puros de *staphylococcus aureus.*

El análisis químico del exudado pleurítico dió grs. 2.80 °/oo de urea.

El suero obtenido por coagulación de la sangre del corazón, producía en la proporción de 1:20, y en una sola hora, la aglutinación, inmovilización y precipitación de todos los microbios de un caldo-cultivo de 24 horas.

Se repite, por consiguiente, en la cabra y en el carnero el mismo conjunto de fenómenos que hemos señalado como específicos en nuestras investigaciones de patología comparada.

En estas dos últimas experiencias, y sobre todo en la segunda, es notable la poca intensidad de la esteatosis hepática; pero esto no puede tener importancia alguna, primero por tratarse de animales que estaban desde mucho tiempo habituados á tolerar grandes cantidades de virus amarillígeno, y en segundo lugar porque el proceso infectivo que fué causa inmediata de la muerte, se desarrolló en un período demasiado breve, sobre todo en el carnero, para poder dar lugar á una degeneración grasa considerable del hígado.

Veremos, en efecto, en la segunda parte, que el veneno amarillígeno puede determinar una esteatosis profunda y general de las células hepáticas.

En cuanto á la lesión renal, en ambos casos se ha manifestado con tal intensidad que se puede admitir que, especialmente en la cabra, si la muerte no se hubiese producido por infección específica, lo hubiese sido por insuficiencia renal; la enorme cantidad de urea hallada solamente en el exudado pleurítico (gramos 4.05 $^{o}/_{oo}$), es, en efecto, muy superior á la más elevada que los autores (Grehant, etc.) han encontrado en los animales muertos por nefrotomía (gramos 2.76 $^{o}/_{oo}$). Esto nos demuestra que también en la fiebre amarilla experimental, el órgano que se muestra más sensible al veneno específico, y cuya lesión funcional constituye un hecho clínico y anatómico de importancia capital, es el riñón.

8

VI

Resumen

Los resultados de esta primera parte de mis investigaciones permiten ya establecer algunas conclusiones fundamentales acerca de la etiología y patogenia de la fiebre amarilla.

La fiebre amarilla es una enfermedad infecciosa, debida á un microrganismo bien definido y susceptible de ser cultivado en nuestros comunes medios nutritivos artificiales.

Este microrganismo, que he designado provisoriamente con el nombre, no muy exacto, de *bacillus icteroide,* puede aislarse, no sólo del cadáver, sino también durante la vida, del enfermo de fiebre amarilla.

Su extracción y aislamiento presenta la mayor parte de las veces dificultades insuperables, en parte debidas á la constante intromisión de infecciones secundarias, y en parte á la relativa escasez en que se encuentra en el organismo.

Estas infecciones secundarias son debidas casi siempre á determinadas especies microbianas, como el *colibacillus,* el *streptococcus,* los *staphilococcus,* los *proteus,* etc., que pueden hacer irrupción en el organismo, aún mucho tiempo antes de la muerte del paciente; y no puede negarse que esta última pueda, algunas veces, ser más imputable á ellas que á la acción del *bacillus icteroide.*

Es probable que una de las causas que contribuyen á dar al cuadro sintomático de la fiebre amarilla el polimorfismo que se

observa en el hombre, sea precisamente la naturaleza y modo de desarrollarse de estas infecciones secundarias.

La infección amarilla, tanto en el hombre como en los animales inferiores, representa una enfermedad de curso cíclico. Durante este período el microbio específico se encuentra en los órganos en pequeño número, y es solamente al final del ciclo morboso — que puede fijarse al rededor de 7 ú 8 días — que se multiplica resueltamente é invade, casi de improviso, al organismo entero, acompañado casi siempre de otros microbios de procedencia probablemente intestinal.

Sólo en los casos que terminan de ese modo, es decir, que cumplen con regularidad su ciclo morboso, puede encontrarse con relativa facilidad al microbio específico diseminado en los órganos y en la sangre; pero cuando una septicemia intercurrente ó un precoz envenenamiento urémico pone término antes de tiempo al ciclo morboso, entonces es sumamente difícil, sino del todo imposible, aislar el *bacillus icteroide.*

En otra ocasión estudiaremos las causas de estas infecciones secundarias, que en la fiebre amarilla constituyen casi una regla con bien pocas excepciones.

El *bacillus icteroide,* una vez que ha penetrado en el organismo, no solamente determina una intoxicación general, sino que produce alteraciones específicas que tienen su asiento de elección sobre todo en los riñones, en el tubo digestivo y en el hígado.

En este último órgano determina una rápida degeneración grasa del elemento histológico; en el canal digestivo produce los efectos de una gastro-enteritis hematógena, y en el riñón produce la nefritis parenquimatosa aguda.

Como la lesión renal es una de las más precoces, debe atribuirse á la anuria, que bien pronto se establece en los enfermos de fiebre amarilla, una influencia no despreciable en el desarrollo del cuadro morboso y en la terminación del mismo (1).

El enfermo de fiebre amarilla está, pues, amenazado al mismo

(1) Esta gran importancia de la lesión renal no había escapado á algún antiguo observador. En efecto, Lallemant (*On the fever of Rio Janeiro.* — New Orleans, 1854; pág. 276), para indicar la fiebre amarilla, usaba las expresiones: *tifus renal, influenza renal,* etc.

tiempo por tres peligros inminentes, y el resultado del examen bacteriológico del cadáver puede con bastante aproximación evidenciar la causa principal de la muerte:

1.° Ésta puede considerarse como debida á la infección específica principalmente, cuando el *bacillus icteroide* se encuentra en el cadáver en cierta cantidad y en estado de relativa pureza. Esto sucede sólo en los casos que siguen hasta el fin el propio ciclo morboso.

2.° Puede considerarse producida por septicemias, que se han ido estableciendo sucesivamente durante el curso de la enfermedad, cuando el cadáver da como resultado bacteriológico un cultivo casi puro de otros microbios.

3.° Puede ser debida también en gran parte á la insuficiencia renal, cuando el cadáver se encuentra casi estéril, la proporción de urea en la sangre es muy elevada y la muerte ocurre antes que la enfermedad haya alcanzado el término de su ciclo evolutivo.

Es difícil establecer durante la vida del paciente, si prevalecen ó no los síntomas urémicos sobre los específicos, porque los síntomas más salientes de la intoxicación amarilla se confunden fácilmente con los de la insuficiencia renal.

Esta frecuente é inevitable complicación es quizá la causa principal que impide la adopción de un tipo térmico específico de la fiebre amarilla. Es muy probable que ciertas temperaturas de apariencia normal y algunas extrañas hipotermias, que aparecen con gran frecuencia durante el estadío de delirio ó en plena evolución de la enfermedad, y algunas extrañas é imprevistas terminaciones del proceso morboso, más bien que á la acción del veneno amarillígeno, sean debidas en gran parte á la intervención de la intoxicación urémica.

El llamado *vómito negro* es debido á la acción de la acidez gástrica sobre la sangre extravasada en el estómago á consecuencia de las graves lesiones tóxicas de su mucosa.

El acto del vómito es provocado directamente por la acción *emética* específica que poseen los productos tóxicos del *bacillus icteroide* que circulan en la sangre

El carácter hemorrágico presentado por la enfermedad es debida, ante todo, á las *propiedades hemorragíparas* que posee

el *bacillus icteroide*, lo mismo que otros microbios; y en segundo lugar á las rápidas y profundas degeneraciones adiposas, específicas, que produce en las paredes de los vasos.

La investigación é identificación del *bacillus icteroide* en los tejidos no puede tener valor sino después de conocidos los resultados bacteriológicos de la autopsia.

El *bacillus icteroide* posee caracteres morfológicos tan netos, que permiten, no obstante su notable pleomorfismo, distinguirlo con mucha facilidad de entre todos los microbios hasta hoy conocidos. Una vez aislado, ya sea del cadáver, ó del enfermo, su diagnóstico bacteriológico exacto no requiere más de 24 horas.

El *bacillus icteroide* es patógeno para la mayor parte de nuestros animales domésticos.

En los ratones, cobayas y conejos reproduce una enfermedad cíclica, análoga á la que observamos en el hombre, y cuya duración es para los primeros de cerca 5 días, para los segundos 6-8 días y cerca de 5 para los últimos. Durante esta enfermedad, los microbios inoculados se multiplican muy poco en el interior de los órganos. Sólo 24-48 horas antes de la muerte hacen irrupción de improviso en el torrente circulatorio, y concluyen por matar el animal por septicemia.

Es en el hígado de los conejos donde se comienzan á constatar los primeros efectos de la acción esteatógena del veneno icteroide.

La trasmisión de la enfermedad puede obtenerse experimentalmente en los cobayas y conejos por las vías respiratorias. En este caso el examen bacteriológico habla en favor de un proceso tóxico análogo al observado en el hombre. Es, pues, posible que el contagio del virus amarillígeno pueda ocurrir también por medio del aire, en condiciones naturales; lo cual estaría de acuerdo con la mayor parte de las opiniones dominantes al respecto.

En los *perros*, el *bacillus icteroide* produce un cuadro sintomático y anatómico más completo y análogo al observado en el hombre; esto es: vómitos, hematemesis, hematuria, albuminuria, gastro-enteritis hematógena, nefritis, ictericia, profunda degeneración grasa del hígado, intoxicación urémica y aparición de infecciones secundarias.

En los *monos* puede producir la enfermedad cíclica, completa esteatosis del hígado, infecciones mixtas, etc.

En la *cabra* y el *carnero* ataca más profundamente los riñones, determina albuminuria é intoxicación urémica. Produce, además, degeneración aguda específica de la célula hepática, y favorece así las infecciones mixtas.

El virus de la fiebre amarilla posee, pues, tres principales propiedades patógenas, que en su conjunto contribuyen á darle una fisonomía propia, que puede ser considerada como específica:

1.° *Las propiedades esteatógenas*, que se manifiestan con tanta mayor intensidad cuanto más elevado en la escala zoológica es el animal sobre el cual ellas se ejercen. Aparecen, en efecto, en grado mínimo en el conejo y llegan al *máximum* de sus efectos en el perro, en el mono y en el hombre. La ictericia que se manifiesta, en general, cuando la enfermedad está ya avanzada, es quizá debida á las graves alteraciones anatómicas del hígado, en el que la bien conocida dislocación de la trama hepática debe constituir un verdadero obstáculo mecánico al libre derrame de la bilis, favoreciendo, en consecuencia, su reabsorción por el sistema linfático.

2.° *Las propiedades congestivas y hemorragíparas* que — á pesar de ser comunes á otros microbios — por el asiento anatómico de su acción, constituyen un carácter específico muy saliente, puesto que se deben á ellas, no sólo el clásico vómito de sangre (*vómito negro*) y las variadas manifestaciones hemorrágicas que presentan las mucosas, sino también las congestiones vasales que son la causa principal de los bien conocidos dolores patognomónicos (cefalalgia, raquialgia, hepatalgia) de la fiebre amarilla.

3.° *Las propiedades eméticas*, que aún sin ser — lo mismo que las precedentes — manifestación estrictamente específica del virus amarillígeno, no obstante, por la rapidez, la intensidad y la insistencia con que suelen manifestarse en el hombre y en los animales superiores (perros), dan á este virus un carácter patogénico especial, que hace fácil su diferenciación de todos los otros conocidos hasta hoy.

SEGUNDA PARTE

SEGUNDA PARTE

I

El veneno amarillígeno

Los síntomas, las lesiones y los resultados del estudio bacteriológico de la fiebre amarilla, tanto en el hombre como en los animales, hacen presumir la existencia de un *veneno específico*, elaborado por el *bacillus icteroide*, y capaz de desarrollar por sí solo todo el cuadro morboso que hasta ahora hemos descrito comparativamente.

Además de esto, la pequeña cantidad en que se encuentra generalmente el *bacillus icteroide* en el organismo humano, y la violencia de los síntomas que sobrevienen en el perro inmediatamente después de la inyección intravenosa de cultivos relativamente poco abundantes, hacen suponer que el veneno amarillígeno debe ser una sustancia muy enérgica, y activa aún en pequeñas dosis. Era, pues, interesante estudiar su acción sobre el organismo animal.

En estas investigaciones me he servido siempre de cultivos de 15 - 20 días, simplemente filtrados á través de la bujía de Chamberland.

En cuanto se refiere al medio de cultivo, haré notar desde ahora, que después de múltiples tentativas efectuadas con una gran variedad de mezclas nutritivas, he concluído por adoptar el caldo de carne peptonizado usado comunmente.

La toxina preparada por este sencillo procedimiento, fué después ensayada en los cobayas, en los conejos, perros, cabras, asnos, caballos y en el hombre.

II

La intoxicación amarilla en el cobaya y en el conejo

Estos animales no son muy aparentes para el estudio de la toxina amarillígena. Los resultados que se obtienen por medio de inyecciones subcutáneas ó intravenosas de cultivos filtrados, son poco concluyentes.

Los cobayas mueren en 24 horas, sólo cuando se les inyectan dosis bastante elevadas: 15 - 20 c. c. Las dosis menores, de 2 - 5 - 10 c. c., no producen sino una disminución progresiva del peso del cuerpo, que se acentúa durante 10 - 12 días; después de los cuales, en general, los animales se restablecen, volviendo á su peso primitivo.

He querido también estudiar el efecto del calor sobre estos cultivos filtrados, y he constatado que la temperatura de 70° C. no altera casi nada su poder tóxico, mientras que la de 100° C. lo atenúa sensiblemente.

Si en vez de emplear los cultivos filtrados, se emplean esterilizados por el éter, su poder tóxico es mucho mayor. La pequeña dosis de 1 c. c. inyectada bajo la piel, puede producir en 24 horas una disminución de 15 á 20 grs. en el peso del cuerpo de un cobaya de 300 grs.

Sin embargo, aún en este caso las pequeñas dosis no hacen sino disminuir transitoriamente el peso del cuerpo. Para matar los cobayas de 300 grs. se necesitan por lo menos 10 c. c.

en una sola inyección: la muerte sobreviene entonces al cabo de 10 - 20 ó 30 días.

Las lesiones que se encuentran en la autopsia, después de la intoxicación, ya sea aguda ó crónica, no presentan nada de interesante. En los casos agudos se tienen fenómenos congestivos generales; en los casos crónicos se presenta el cuadro de la caquexia.

En los *conejos* se observa una resistencia algo menor.

La vía más conveniente para producir la intoxicación es la endovenosa. Las dosis de 2 á 5 c. c. de cultivo filtrado no producen ningún efecto; pero á partir de 10 c. c. los conejos de 1 kilogr. mueren regularmente en 7 - 8 días, sin presentar, no obstante, ningún fenómeno interesante relacionado con la índole de nuestras investigaciones.

He abandonado, por consiguiente, bien pronto los pequeños roedores, considerándolos inadecuados para esta clase de trabajos.

III

La intoxicación amarilla en el perro

En el *perro* se reproducen, con la toxina, los mismos síntomas y las mismas lesiones que hemos descrito á propósito de las experiencias hechas con el virus.

Se repite también aquí con la toxina el mismo inconveniente que ya hemos señalado con relación al virus: es decir, que la cantidad capaz de enfermar ó de matar un perro es sumamente variable. Esta cantidad es, sin embargo, notable, y sus efectos son diversos según se inyecte bajo la piel ó directamente en las venas.

La inyección subcutánea no debe aconsejarse; produce aún á dosis moderadas — de 5 - 10 c. c. — enormes tumefacciones locales de muy lenta reabsorción, y aún en grandes cantidades es incapaz de determinar la aparición de los síntomas característicos de la fiebre amarilla en el perro.

Es muy probable que la toxina amarillígena determine en el punto de inyección un proceso inflamatorio ó necrótico tan rápido que impida ú obstaculice mucho su difusión en el organismo. Veremos después, que idéntico fenómeno se verifica en otros animales y en el hombre mismo.

Si en lugar de los cultivos simplemente filtrados, se inoculan bajo la piel cultivos esterilizados con éter, los fenómenos locales son aún más graves y acentuados; pero, aparte de la fiebre — que puede durar algunos días — y de un malestar fá-

cilmente explicable por la imponente tumefacción y por el fuerte dolor local que generalmente la acompaña, no se observan nunca fenómenos generales importantes.

Parecería, pues, que la toxina inoculada bajo la piel, fuera como neutralizada, digerida y aniquilada por la enorme cantidad de leucocitos que afluyen inmediatamente al rededor del punto de inoculación, donde determinan muy á menudo la formación de grandes colecciones purulentas, que concluyen por ulcerarse evacuándose al exterior.

No fué nunca posible — ni aún repitiendo durante varios días seguidos la inyección subcutánea de fuertes dosis de toxina — provocar el vómito, la gastro - enteritis, la fotofobia, etc., que tan fácilmente sobrevienen á consecuencia de la inyección intravenosa del virus, y que veremos también reproducirse mediante las inyecciones endovenosas de la toxina.

Lo que puede observarse después de algún tiempo en los perros que han recibido la toxina por vía subcutánea durante mucho tiempo, es una disminución del peso del cuerpo, un coriza pertinaz acompañado de abundante catarro de la mucosa nasal, y una tumefacción difusa y dolorosa de todo el tejido subcutáneo cercano al sitio de la inyección. Pero como todo esto no presenta ninguna particularidad que pueda interesarnos, abandoné bien pronto las inyecciones subcutáneas y continué la experimentación usando exclusivamente las inyecciones intravenosas.

Estas últimas pueden efectuarse fácilmente por una de las numerosas venas superficiales que se observan en la cara interna del muslo.

La dosis de cultivo filtrado que debe inyectarse para obtener resultados demostrativos, varía naturalmente bajo la influencia de múltiples factores, que se repiten en todas las experiencias efectuadas sobre los perros; pero la dosis de 24 - 40 c. c. en perros de 3 á 4 kilogrs., es suficiente para provocar en seguida fenómenos gravísimos.

En efecto, inmediatamente después de la inyección, el animal no presenta nada de particular; pero á los 10 - 15 minutos so-

breviene un escalofrío general que lo sacude violentamente; aparecen casi siempre evacuaciones diarreicas; comienza una abundante secreción lagrimal, y entra por fin en escena el vómito, impetuoso y continuo, al principio alimenticio, y después mucoso, de modo que el animal evacua completamente y en poco tiempo su cavidad gástrica, y se echa en la jaula enteramente privado de fuerzas; á menudo se manifiestan precoces hematurias.

Si la dosis fué moderada, el perro se restablece muy pronto de este violento ataque, comparable á un envenenamiento producido por un enérgico vomitivo; pero si la cantidad de toxina es bastante grande (150 - 200 c. c.), ó si se repite en los días siguientes aumentando progresivamente la dosis, el perro concluye por sucumbir, presentando las mismas lesiones anatómicas que hemos descrito como debidas á la acción del virus viviente.

Estas lesiones generalmente son las siguientes: *tórax* con exudación serosa, á veces abundante (60 - 100 c. c.), constituída en el mayor número de los casos por un líquido transparente, de color rojo vinoso (hemoglobínico); degeneración grasosa del *miocardio*. *Abdomen: hígado* seco con extensas manchas amarillentas, que el examen microscópico demuestra estar formadas por células hepáticas en completa degeneración grasosa y por innumerables gotas de grasa completamente libres; *bazo* de aspecto normal; *riñones* con los signos de la nefritis parenquimatosa aguda; *vejiga*, contraída, con pocas gotas de orina albuminosa ó hematúrica; la *mucosa gástrica* de un color oscuro, y su contenido, como el del canal intestinal, está constituído por un líquido color café.

Lo que presenta realmente un interés especial, es el resultado de las investigaciones bacteriológicas.

La sangre y las vísceras de los perros que mueren por intoxicación amarilla, sobre todo si ésta ha durado algunos días, casi nunca son estériles. La mayor parte de las veces se obtienen cultivos abundantísimos de *streptococcus*, más raramente de *colibacillus* ó de *staphilococcus aureus*.

Existe, pues, una completa analogía con lo que hemos seña-

lado en el hombre: el amarillismo facilita, por lo regular, la aparición de las infecciones secundarias.

En un próximo capítulo nos ocuparemos también del mecanismo de estas infecciones secundarias, que presentan tanto interés, ya del punto de vista clínico, como del bacteriológico.

IV

La intoxicación amarilla en el gato, en la cabra, en el asno y en el caballo

El *gato* es muy resistente, tanto á la acción del virus, como á la de la toxina icteroide; se le pueden inyectar dosis verdaderamente formidables del uno ó de la otra, sin producir otra cosa que una disminución de peso, más ó menos acentuada, seguida de un proceso inflamatorio en el punto de inyección. Debe, por lo tanto, considerarse á este animal como el más resistente de cuantos he tenido ocasión de experimentar hasta ahora, y por eso su estudio, del punto de vista de la patogenia de la fiebre amarilla experimental, no presenta ninguna utilidad inmediata.

En lo que se refiere á la *cabra*, como también al *asno* y al *caballo*, no he seguidó en mis investigaciones una marcha sistemática, por tratarse de animales de gran talla y de un valor comercial relativamente elevado; pero he podido estudiar en ellos la acción del veneno amarillígeno durante las múltiples tentativas de vacunación que desde hace tiempo vengo practicando, y que á veces fueron seguidas de muerte.

Contrariamente á la manera como se comporta con respecto á las infecciones más conocidas, la *cabra* es muy sensible, tanto al virus como á la toxina amarillígena.

Ya hemos visto antes cómo pequeñas dosis de virus son suficientes para matar una cabra grande y adulta. Con relación

á la toxina, no es posible establecer una dosis fija. Á veces he visto pequeños cabritos tolerar, durante muchos días seguidos, dosis bastante grandes (15-20 c. c.) de toxina, sin manifestar otra cosa que un enflaquecimiento pasajero; mientras que se me han muerto cabras adultas y en excelente estado de salud, después de la inyección subcutánea de pequeñas dosis fraccionadas.

He aquí, por ejemplo, el interesante resultado de una de estas intoxicaciones en la cabra, seguida de muerte, que extracto de mi protocolo de vacunaciones:

CABRA ADULTA, núm. 2, KILOGRS. 20

El 2 y el 5 de Agosto fué inoculada bajo la piel, con 1 c. c. de cultivo filtrado. Localmente presentó una pequeña tumefacción con dolor de la parte inflamada; el 8 de Agosto recibió otros 2 c. c.; el 11 del mismo, 3 c. c.; el 13 y el 17 otros 5 c. c.; en fin, el 19 y el 21 del mismo mes 10 c. c.; por lo tanto, en 18 días había recibido en conjunto 37 c. c. de cultivo filtrado.

Pero el mismo día de la última inyección se enfermó y murió durante la noche.

AUTOPSIA

Dió los resultados siguientes:

Tórax: presenta en ambas cavidades pleurales 500 c. c. de exudado seroso, transparente, privado de leucocitos, color rojo vinoso. Analizado químicamente este exudado, demostró contener urea en cantidad de gramos 2.70 ⁰/₀₀; es decir, igual á la cantidad que se encuentra en la sangre de los animales nefrotomizados. Estudiado del punto de vista biológico, agregándolo en la proporción de 1: 5 á un caldo - cultivo fresco de *bacillus icteroide*, produce en 1 hora y 30' la inmovilización y aglutinación de todos los microbios.

El *hígado* presentaba macroscópicamente el aspecto de la nuez moscada; las preparaciones obtenidas por dislaceración en el ácido ósmico, demostraron una completa degeneración grasa de todas las células hepáticas. Las lesiones del órgano, fijado con líquido de Flemming, son idénticas á las dibujadas en una de las planchas que acompañan á esta memoria.

El *bazo*, de volumen normal, pero menos compacto y resistente que de ordinario. Los *riñones* atacados por un proceso inflamatorio tan in-

tenso, que en la superficie del corte no se distinguía ya la parte medular de la cortical, presentando un color borra de vino; las preparaciones del órgano fresco en ácido ósmico revelaron también en el riñón la presencia de cierta cantidad de gotas de grasa. Los cortes en piezas fijadas en líquido de Flemming, revelaron como lesión fundamental muy difusa, una necrosis del epitelio de los canalículos urinarios, por lo cual este último se encuentra turbio, granuloso, conglomerado y en muchas partes privado de núcleos ó con núcleos incapaces de colorearse. La *vejiga* completamente retraída, con muchas manchas equimóticas y conteniendo unos 10 c. c. de un líquido color rojo-sangre. El examen microscópico reveló la ausencia completa de glóbulos rojos, pero el examen al hemómetro de Fleischl dió una cantidad de hemoglobina igual al 30 %.

Los *intestinos* encontrábanse en gran parte congestionados, hiperemiados y equimóticos.

El peso del cadáver era de kilogramos 15.370; la pérdida de peso verificada en 18 días fué, pues, de kilogrs. 4.630.

La investigación bacteriológica fué negativa.

Resumiendo, podemos admitir que también en la cabra la toxina icteroide reproduce exactamente, con excepción del vómito, las mismas lesiones que ya hemos señalado en los perros y en el hombre.

Son, sobre todo, notables en la cabra, la gran tendencia á la hematolisis (exudados hemoglobínicos, hemoglobinuria) y la extremada sensibilidad del riñón á la toxina amarillígena. La muerte del animal débese, por lo tanto, casi exclusivamente á la profunda lesión de esta víscera, puesto que la gran cantidad de urea que se encuentra en los humores del organismo, es un importante elemento de presunción en favor de una grave intoxicación urémica.

Mis experiencias sobre el *asno* se limitan á una sola.

Experiencia I

Se trataba de una robusta burra criolla, acostumbrada á dar diariamente gran cantidad de leche.

El 26 de Diciembre se inoculó bajo la piel con 5 c. c. de toxina

filtrada. Al día siguiente apareció en el punto de inyección una extensa tumefacción dolorosa. Después de dos días, de los pezones de sus turgentes mamas empezaron á fluir algunas gotas de sangre y el animal se puso triste, abatido é inapetente.

Entre tanto la temperatura rectal, de 38°2'-38°6', había subido hasta 41°. El 2 de Enero, habiendo vuelto á la temperatura normal, fué inoculada de nuevo con 10 c. c. de toxina. Se renovó la tumefacción en el punto de inyección, y la leche empezó á desaparecer de las mamas. El 5 del mismo mes, nueva inoculación de 15 c. c. de cultivo filtrado, y el día 8, nueva inyección subcutánea de 5 c. c. de cultivo en caldo, esterilizado con éter. La desaparición de la leche fué entonces completa, y las tumefacciones localizadas en los puntos de inyección se hicieron bastante intensas.

El 12 de Enero á las 3 p. m., habiendo recibido en conjunto sólo 30 c. c. de cultivo filtrado y 5 c. c. de cultivo esterilizado con éter, fué inoculada por vía intravenosa con 10 c. c. de cultivo en caldo, también esterilizado con éter.

Inmediatamente después de la inyección, el animal experimentó dispnea, que desapareció bien pronto; pero durante la noche dió á luz un pequeño embrión de unos 8 centímetros de largo, y al amanecer murió.

AUTOPSIA

Los resultados de la autopsia, efectuada por la mañana temprano, fueron los siguientes: *tórax,* exudado sero-hemorrágico en las dos cavidades pleurales; *abdomen: hígado* con algo de degeneración grasa; el examen microscópico al estado fresco con ácido ósmico muestra las células hepáticas llenas de pequeñas granulaciones grasosas; el *bazo* de volumen normal, pero fláxido y friable; los *riñones* con los signos de nefritis difusa, aguda y gravísima; la *vejiga* retraída y conteniendo una pequeña cantidad de orina, de color rojo, y en la cual el examen microscópico demostró la presencia de enorme cantidad de leucocitos, glóbulos rojos y epitelio; el calor determinó la coagulación *en masa,* como si se tratase de albúmina pura. La cavidad peritoneal contiene gran cantidad de serosidad límpida, pero coloreada de rosado. La *mucosa del estómago* y de los *intestinos* presentábase en algunos puntos claramente congestionada.

El análisis químico de la sangre reveló el 1.29 ‰ de urea.

El resultado de la investigación bacteriológica fué el siguiente: la sangre, el bazo y los riñones resultaron estériles; pero el hígado contenía una pequeña cantidad de *colibacillus* y de *staphilococcus aureus,* y la orina una bastante grande de *staphilococcus aureus* y *albus* mezclados á otras tres especies microbianas indeterminadas.

Renuévase, por lo tanto, en el asno, con pequeñas variantes, el mismo mecanismo patogénico de siempre: procesos inflamatorios y degenerativos en el hígado y en los riñones; lesiones de las mucosas; fenómenos hemorragíparos en los parénquimas, en las cavidades serosas, en las mucosas y en los órganos glandulares (mamas), y, por último, el cuadro final dominado por la intoxicación urémica y por la invasión de los microbios en el organismo.

Hablemos, en fin, de los efectos de la toxina en el *caballo.*

Sobre este punto seremos, por ahora, muy breves; porque estando estos animales destinados á la producción de un suero específico, trataremos especialmente en otra ocasión de los efectos que en ellos producen las inoculaciones de la *toxina icteroide.*

El caballo es extraordinariamente sensible á la acción de la toxina, aún inyectada en pequeña cantidad; puede decirse, por consiguiente, en tesis general, que cuanto más ascendemos en la escala zoológica, tanto más desarrollada se presenta en los animales la sensibilidad hacia este poderoso y extraño veneno.

La inyección subcutánea, aún de pequeñas dosis de cultivo filtrado (5-10 c. c.), determina siempre una fuerte tumefacción local, seguida de fiebre, que dura 12-24 horas. Esta tumefacción es sumamente dolorosa y desaparece con lentitud.

Cuando la inyección es más abundante, ó cuando en lugar de inyectar cultivos filtrados, se inyectan esterilizados con éter — siendo entonces más activos, — la tumefacción que se produce es voluminosa y va seguida constantemente de la aparición de vastos edemas subcutáneos que se extienden hacia las partes declives del vientre y llegan á los miembros, concluyendo á veces por impedir durante varios días los movimientos de las articulaciones. Casi siempre se producen después en la superficie de la piel — enormemente distendida — ulceraciones sanguinolentas que supuran fácilmente y son de difícil curación. Tanto los edemas como la tumefacción, que sobrevienen en el sitio mismo de la inyección, nò desaparecen sino después de muchos días, durante los cuales el animal presenta á menudo una fiebre casi continua.

Las inyecciones intravenosas son toleradas mucho más fácilmente, pero tienen graves inconvenientes.

Después de cada inyección el animal presenta generalmente un fuerte acceso de dispnea y es atacado por un temblor general que lo obliga á echarse al suelo. Aparece la fiebre, y por algunas horas el animal queda algo abatido; pero al día siguiente la temperatura vuelve á su estado normal y no se tiene que lamentar, generalmente, ningún otro incidente.

En el curso de mis experiencias, he debido, sin embargo, lamentar la muerte de algunos caballos, uno de los cuales pertenecía á la raza criolla, que es mucho menos resistente que la mestiza á las toxinas en general, y sobre todo á la diftérica y á la amarillígena.

La autopsia muy sumaria de este caballo criollo, que poco antes de la muerte había tenido algunas pequeñas enterorragias, permitió comprobar: una gran tumefacción del bazo, una leve degeneración del hígado, nefritis, albuminuria y algunos focos de enteritis.

Esto es cuanto he podido observar respecto á la acción del veneno icteroide en los animales.

No he creído necesario insistir más sobre estas investigaciones — que he querido también exponer de una manera muy sucinta — primero, porque no son sino la reproducción más ó menos atenuada de las mismas lesiones que ya hemos estudiado como producidas por el virus, y en segundo lugar, porque he creído más conveniente resolver de una manera perentoria y definitiva las funciones específicas de la toxina amarillígena, experimentándola directamente en la raza humana.

V

La fiebre amarilla experimental en el hombre, reproducida con la toxina amarillígena

Mis experiencias sobre el hombre ascienden al número de cinco.

Por razones fáciles de comprender, no he empleado cultivos vivos, sino simplemente cultivos en caldo de 15-20 días, filtrados por la bujía Chamberland, y esterilizados, además — para mayor precaución — con algunas gotas de aldehido fórmico.

En *dos* individuos he experimentado el efecto de las inyecciones subcutáneas, y en otros *tres* el de las inyecciones intravenosas.

Resumo brevemente de mi protocolo de notas:

INYECCIONES SUBCUTÁNEAS

Observación I

A. T., 36 años, español; pesa 63 kilogramos.

El *8 de Octubre*, á las 4 p. m., inyección subcutánea en la región del biceps braquial, de 2 c. c. de cultivo filtrado y esterilizado.

Al día siguiente se observó en el punto inoculado una ancha zona circular, fuertemente enrojecida, tumefacta, pero poco dolorosa, con una extensión de unos 10 centímetros de diámetro.

Las condiciones generales eran, no obstante, buenas. La reacción febril ha llegado por dos días consecutivos á 38°3' C.

Al empezar el 6.° día la tumefacción tiende á desaparecer, y el día 20 del mismo mes, esto es, después de 12 días, el bazo presentaba su aspecto normal.

Observación II

E. B., de 30 años, italiano; pesa kilogrs. 53.250.

El *19 de Octubre*, á las 3.30 p. m., inyección subcutánea en la región del biceps braquial derecho, de 5 c. c. de cultivo filtrado y esterilizado.

El 2) el brazo apareció muy enrojecido, tumefacto y doloroso en el sitio de la inyección. El paciente está abatido, no tiene apetito y presenta fiebre de 38°2'-38°6 durante todo el día.

El examen de las orinas revela trazas de albúmina.

El *21 de Octubre* la tumefacción se extiende voluminosa á todo el brazo y al pliegue del codo; la piel está inyectada é inflamada. Siguen la fiebre y la albuminuria.

22 de Octubre. — Por la mañana el paciente está apirético; pero á la caída de la tarde se verifica de nuevo un leve movimiento febril acompañado de postración general. La tumefacción va extendiéndose al antebrazo; la orina, en cantidad normal, contiene siempre trazas de albúmina.

23 de Octubre. — La fiebre ha desaparecido, pero la tumefacción del brazo se extiende todavía hacia abajo, pasando la articulación de la mano é invadiendo parte de ésta. Toda la extremidad derecha se halla, por lo tanto, invadida, especialmente en su cara anterior; la piel está fuertemente enrojecida y de aspecto erisipelatoso. Trazas de albúmina en las orinas.

24 de Octubre. — La tumefacción empieza á reabsorberse rápidamente, la temperatura es normal, pero se encuentran todavía trazas de albúmina en las orinas.

25 de Octubre. — La tumefacción desaparece de una manera visible; el paciente está bien, ha recuperado el apetito y presenta temperatura normal. Trazas de albúmina en la orina.

26 de Octubre. — El miembro inoculado ha vuelto casi por completo á su estado normal, pero las orinas son siempre un poco albuminosas.

29 de Octubre. — Practico una *segunda inyección* de 5 c. c. de cultivo filtrado y esterilizado, en la misma región ya precedentemente inoculada.

En la misma noche se renueva la fiebre y reaparece una leve tumefacción, que queda sin embargo bastante limitada y desaparece con gran rapidez después de unas 48 horas.

En los días sucesivos el paciente no manifestó ya ningún fenómeno, ni local ni general.

INYECCIONES INTRAVENOSAS

Observación III

E. N., de 20 años, español; pesa 56 kilogramos.

3 de Noviembre. — A las 4 p. m., temperatura axilar 37°1. Inyección intravenosa (en la vena cefálica del brazo derecho) de 10 c. c. de cultivo filtrado y esterilizado con aldehido fórmico.

Inmediatamente después de la inyección el paciente se acostó: estaba tranquilo, y bebió cerca de un litro de leche esterilizada.

Después de unos 15 minutos tuvo *náuseas* y *conatos de vómito,* seguidos poco después, de violentos esfuerzos de vómito, que concluyen por expeler toda la leche ingerida poco antes.

Al mismo tiempo aparece una agitación general de todos los miembros y entran en escena violentos y continuos dolores en la *región lumbar,* que arrancan fuertes lamentos al enfermo y no le permiten reposar.

Poco á poco también la *región abdominal* se pone dolorosa. La más leve presión de la mano ejercida sobre el vientre ó sobre la región lumbar, aumentan de un modo insoportable estos dolores.

Entretanto la temperatura axilar sube sin interrupción, y de 37°1, que presentaba antes de la inyección, marca 38°5 dos horas después, y llega á 40°3 á las 8 de la noche, es decir, después de 4 horas; cerca de la media noche la reacción febril cesa y á la mañana vuelve á ser casi normal (37°5).

A pesar de esto el paciente está muy mal, y durante toda la noche, no solamente ha debido velar, presa de angustiosos dolores abdominales y lumbares, á los cuales se había unido bien pronto una violenta *cefalalgia,* sino que estuvo atormentado continuamente por un *vómito incoercible,* que después de haber expulsado hasta los últimos residuos alimenticios del estómago, se convirtió en un vómito mucoso de color verde amarillento bastante intenso.

Empieza á manifestarse la *anuria.*

4 de Noviembre. — Sigue el mismo estado; se suministra al paciente

leche, que es expulsada inmediatamente: la *intolerancia gástrica* es completa.

Entretanto la agitación general se acentúa cada vez más; el paciente acusa una sensación indefinible, angustiosa, que le quita toda calma, y los *dolores lancinantes de la región renal* se hacen cada vez más persistentes.

Continuando la anuria acompañada de *tenesmo espasmódico,* se practica repetidas veces el cateterismo de la vejiga, pero no se obtiene ni una gota de orina.

Los conatos de vómito no tienen tendencia á cesar, y la materia del vómito es una mucosidad coloreada por la bilis.

Cerca de la noche el tenesmo vesical empieza á hacer sufrir al enfermo, el cual se esfuerza en vano por orinar.

A las 4 p. m. se manifiesta un poco de *delirio,* siendo la temperatura axilar de 38°5. El enfermo trata repetidas veces de tirarse de la cama, y los dolores en la región renal llegan á ser tan intensos, que le arrancan lamentos continuos.

Se cateteriza de nuevo sin ningún resultado.

Al anochecer el enfermo es asaltado por un *sub-delirio* que no lo abandona en toda la noche, y que es interrumpido á cada instante por incesantes esfuerzos de *vómito.*

5 de Noviembre. — Al aclarar el día el enfermo se presentó desmayado, con una *coloración cianótica* de todos los tegumentos cutáneos.

El *delirio* es todavía vivo y agitado; se verifican algunas *evacuaciones diarreicas,* de color amarillento, pero persiste por completo la anuria.

La tendencia continua á precipitarse del lecho, es la nota dominante de todo el día.

Entre tanto los *dolores* y la extrema *hiperestesia* de las regiones lumbar y epigástrica se hacen cada vez más agudos. El paciente no puede tolerar sobre estas regiones ni aún el leve contacto de una mano. Á las 5 a. m. la temperatura es de 37°7', pero hacia las 11 se elevó á 38°3', manteniéndose así todo el día.

El vómito es siempre incesante, á pesar de que el enfermo, después de la inyección de la toxina, no haya podido tocar ningún alimento.

El líquido vomitado no es ya *verde-bilioso:* presenta un color de *café* claro; recogido en un vaso cónico, deposita rápidamente un sedimento negruzco, que, examinado al microscopio, aparece constituído por glóbulos rojos de la *sangre,* leucocitos, células epiteliales de la mucosa gástrica y pequeños coágulos sanguíneos. La reacción es ácida.

Después del medio día se practica de nuevo, aunque inútilmente, el cateterismo: no se llega á obtener ni una gota de orina.

El paciente está por lo tanto *anúrico* desde hace dos días.

Aumenta en algunos puntos la congestión de la piel, que toma un *color violado,* sobre todo en los brazos y en la cara.

Este color violado está difundido á manera de manchas ó de estrías, en las partes donde la piel es más delicada (palma de la mano, cara interna de los miembros inferiores y tórax). Aparecen además anchas *manchas amarillentas* en varios puntos del cuerpo. Inspeccionando las escleróticas, se nota una *coloración sub-ictérica* bastante evidente.

Practico en la vena del brazo una *sangría* aséptica de unos 25 c. c. de sangre, que dejo coagular.

Introduciendo en la vejiga una pequeña jeringa, se llega á extraer, merced á una cánula aspiradora, algunas gotas de orina turbia, rica de epitelios y que se coagula completamente por el calor.

Sigue durante todo el día el estado de delirio, interrumpido por breves pausas de estado comatoso.

Practico con una cánula esterilizada varias *punciones exploradoras* del *hígado* y del *riñón*, aspirando de ambas vísceras trazas de jugo, que utilizo haciendo cultivos y preparaciones microscópicas.

Durante la noche siguiente el enfermo mejora un poco, y después de algunos días, concluye por restablecerse.

Mientras tanto yo abandono la continuación de mis observaciones para ocuparme en seguida de las

Investigaciones sobre la sangre

Los cultivos practicados en varios medios nutritivos quedaron estériles.

La coagulación se efectúa regularmente y pone en libertad unos 10 c. c. de suero límpido y amarillento. Este suero añadido en la proporción de 1:5 á un caldo-cultivo reciente de *bacillus icteroide*, produce en 12 horas la inmovilización y aglutinación de los mismos, que se precipitan casi completamente al fondo del tubo.

El análisis químico para la investigación de la urea reveló el 3,163 °/oo.

Tratando el coágulo por el mismo procedimiento (1), evaporando después el residuo acuoso y tratándolo por el ácido nítrico, obtuve una abundante cristalización de nitrato de urea, que recogí y que conservo todavía.

Investigaciones sobre el jugo hepático y renal

Los cultivos sembrados con el material obtenido por medio de las punciones exploradoras del hígado y de los riñones, quedan estériles.

El examen microscópico del jugo hepático verificado en fresco, empleando el ácido ósmico, descubre una *profunda degeneración grasosa*

(1) Véase la descripción del método analítico en la 1.ª Parte.

de todas las células hepáticas; además en la preparación encuéntranse muchas gotas de grasa enteramente libres.

El examen en fresco del jugo renal revela una intensa tumefacción turbia, con degeneración granulosa de los epitelios.

Observación IV

N. Q., de 35 años, español; pesa 61 kilogramos.

12 de Noviembre.—Hora 3.30 p. m.; temperatura axilar de 37°3'. Inyección intravenosa (en la vena cefálica del brazo izquierdo) de 5 c. c. de cultivo filtrado y esterilizado con aldehido fórmico.

Poco después de la inyección el paciente se queja de *malestar* general, se siente sin fuerzas y obligado á ganar la cama.

Se le hace beber una taza de leche; pero los fenómenos de *intolerancia* gástrica se manifiestan inmediatamente con tal intensidad, que, no sólo la leche es en seguida expulsada, sino que desde ya empiezan las *náuseas* y el *vómito* incoercible.

A las 8 de la noche la temperatura es elevadísima, llegando al *máximum* de todo el período febril (41°). El enfermo empieza á quejarse de intensa *cefalalgia*, sobre todo en la región frontal, de gran *ansia epigástrica*, de *raquialgia*, de *dolores musculares* y *articulares*, con irradiaciones lancinantes hacia los miembros inferiores.

En este período el enfermo es invadido por una *violenta agitación* general y continua que le arranca incesantes lamentos.

Al mismo tiempo se manifiesta una *congestión general* extendida á toda la superficie cutánea, que está caliente y seca. Esta congestión es sobre todo intensa en la cara y en las conjuntivas, por lo cual los ojos rojos, húmedos y brillantes, las pupilas dilatadas y la mirada vaga é inconsciente dan á la fisonomía del paciente el *aspecto de un ebrio*.

13 de Noviembre.—Á las 8 de la mañana la temperatura axilar es de 39°2' y se han calmado algo los imponentes síntomas generales del día anterior; pero durante toda la noche el insomnio ha sido persistente y ha sobrevenido *diarrea*. Las deyecciones, no muy abundantes, son enteramente líquidas y sobremanera fétidas, con un color amarillento, parecido al de las deyecciones de los niños que maman.

La *lengua* es *saburral* en la parte mediana, y vivamente enrojecida en las márgenes. El *pulso* es débil, pero regular. Al medio día la temperatura se elevó á 40°.

La *diuresis* ha disminuído considerablemente, y las escasas orinas presentan un tinte muy oscuro; su examen demuestra la presencia de

albúmina y la ausencia de pigmentos biliares. Esta diuresis ha ido disminuyendo progresivamente durante todo el día, y á las 4 de la tarde sólo pudo obtenerse una cantidad de orina apenas suficiente para el análisis, que revela todavía la existencia de una *gran cantidad de albúmina* y la ausencia de pigmentos biliares.

A las 5 p. m. la temperatura se mantiene á 40° y el estado general se agrava visiblemente.

Los *dolores* reaparecen más imponentes que al principio, y el enfermo presenta á cada instante *accesos de delirio.*

Apenas puede responder á nuestras preguntas, y señala con insistencia las regiones *epigástrica*, *lumbar* y *frontal* como el asiento principal de sus dolores. La más pequeña presión en esas regiones arranca al paciente vivas quejas.

Los *vómitos de materia biliosa* se repiten siempre con mayor frecuencia. A las 7 p. m. es atacado por un *violento temblor;* la *anuria* es completa y la superficie del cuerpo empieza á presentar una *coloración sub-ictérica,* especialmente apreciable en las mejillas.

Las pupilas se van poco á poco contrayendo, y al empezar la noche aparecen *accesos de dispnea.* Los movimientos respiratorios son breves, incompletos y precipitados (40 respiraciones por minuto).

Se nota también una discordancia entre el pulso y la temperatura: ésta es de 40°, mientras que el primero es lento y casi imperceptible.

Durante la noche el estado general se ha ido agravando; el *insomnio* y la *anuria* han sido completos; los *vómitos* y la *diarrea* han continuado también casi sin interrupción.

14 de Noviembre. — Al aclarar el día el paciente está completamente exhausto de fuerzas, con una temperatura de 38°4.

Practico asépticamente una pequeña sangría de cerca de 30 c. c. de sangre, que hago coagular en un recipiente esterilizado, para recoger el suero.

Ejecuto del mismo modo, como en el caso precedente, algunas *punciones exploradoras* — con todas las precauciones asépticas — del *hígado* y de los *riñones*, extrayendo de ambas vísceras pequeñas cantidades de jugo que me apresuro á sembrar sobre varios medios nutritivos y á examinar al microscopio.

A las 8 a. m. el paciente empieza á presentar un poco de *colapsus;* la piel se enfría, las extremidades se hacen cianóticas, la dispnea se hace más pronunciada, las pupilas se dilatan de nuevo, y el pulso es casi imperceptible.

Pero terminada esta grave crisis, que dura algunas horas, el enfermo empieza á sentirse un poco mejor, y después de algunos días concluye por restablecerse. Mientras tanto yo abandono la continuación de las observaciones, para atender á las

Investigaciones sobre la sangre

Los cultivos practicados en variados medios nutritivos quedan estériles.

La coagulación se verifica regularmente y pone en libertad unos 15 c. c. de suero color amarillo de oro, bastante vivo. Este suero, añadido á los cultivos frescos de *bacillus icteroide*, en la proporción de 1:5, sólo determina una inmovilización y aglutinación parciales; ni aún después de 12 horas se verifica la completa precipitación de los microbios en el fondo del tubo.

Los resultados del análisis químico señalan la presencia del 1.90 °/oo de urea.

Investigaciones sobre el jugo hepático y renal

Las pequeñas cantidades de jugo hepático extraídas por medio de una gruesa cánula esterilizada, resultan completamente estériles en los cultivos; pero el examen microscópico con ácido ósmico, pone de manifiesto una *profunda degeneración* adiposa de todas las células hepáticas, las cuales presentan el protoplasma lleno de gotas grasosas de todas dimensiones.

Los cultivos practicados con jugo renal dieron por resultado la presencia de *colibacillus* en pequeña cantidad.

Observación V

P. B., de 30 años, italiano; pesa 64.250 kilogramos.

26 de Noviembre (3.30 p. m.).—Temperatura axilar 36°8; *1.ª inyección intravenosa* de 2 c. c. de cultivo filtrado.

Poco después de la inyección el paciente experimenta un poco de malestar general, acompañado de leve *cefalalgia*, que dura todo el resto del día. La temperatura axilar sube, casi en seguida, á 40°1, y se mantiene alta hasta la noche.

27 de Noviembre. — Al día siguiente se encuentra completamente restablecido y sin fiebre; pero el examen de las orinas demuestra trazas evidentes de *albúmina*, y en el labio inferior se presenta una pústula de *herpes febril.*

28 de Noviembre (4 p. m.) —Practico una *2.ª inyección intravenosa* de 7 c. c. de cultivo filtrado.

Inmediatamente después el paciente es acometido por un fuerte *escalofrío* con temblor general; se le da de comer un poco de carne, pero poco después *vomita* todo el contenido del estómago.

El malestar se agrava rápidamente, y P. tiene que ponerse en cama, donde continúa el escalofrío más intenso que al principio. La cara se inyecta fuertemente y la respiración se hace dispneica.

Más tarde empiezan la *fiebre*, que llega á 40°7, y una *cefalalgia* violenta que no abandona ya al enfermo.

29 de Noviembre. — En efecto, al día siguiente, no solamente persiste la *cefalalgia*, sino que el paciente se queja de fuertes *dolores* en las articulaciones de los miembros inferiores y en las *regiones lumbares*. Sin embargo la fiebre ha desaparecido, y en el labio superior se manifiesta una segunda *herpes febril.*

30 de Noviembre. — El paciente está apirético, pero presenta todavía un ligero grado de cefalalgia y dolores vagos en diversas partes del cuerpo.

La orina es clara, sin albúmina ni pigmentos biliares. La lengua es un poco saburral.

Á las 4 p. m. practico una *3.ª inyección intravenosa* de 15 c. c. de cultivo filtrado.

En seguida de la inyección, el paciente es atacado por una gran postración general y un violento escalofrío, que lo obligan á acostarse. Apenas está en la cama se manifiesta un temblor general bastante violento, y el frío se hace tan intenso, que el enfermo pide incesantemente nuevos abrigos.

La cara se inyecta, y poco después empieza la fiebre acompañada de intensa cefalalgia. Pero la reacción febril es bastante menos intensa que la producida por la inyección precedente. La temperatura se eleva hasta 40°3', para volver á descender poco después, dejando sin embargo al enfermo débil, postrado con dolores lumbares persistentes y atormentado por continuas *náuseas* y por conatos de *vómito* que no le permiten alimentarse.

3 de Diciémbre. — En este estado el paciente continúa aún tres días, sin que le abandonen: la *cefalalgia*, los *dolores lumbares*, las *náuseas*, y la *debilidad*, que le obliga, á cada momento, á ponerse en cama. Los labios preséntanse ulcerados por numerosas pústulas de *herpes.*

Á las 4 p. m. practico una *4.ª inyección intravenosa* de 26 c. c. de cultivo filtrado. El enfermo se acuesta poco después, pero los fenómenos generales inmediatos son mucho más mitigados que los provocados por las precedentes inyecciones.

Bien pronto el paciente comienza á sufrir una sed ardiente, y una hora y media después comienza la reacción febril (39°3), acompañada por una exacerbación de los dolores lumbares y de la cefalalgia, que no le permiten descansar un instante durante toda la noche.

4 de Diciembre.—Al amanecer, los fenómenos generales, dolorosos, disminuyen poco á poco, persiste la sed ardiente; pero hay absoluta intolerancia hacia cualquier alimento. El paciente rehusa la leche, y su estómago no puede tolerar más que agua pura, que bebe ávidamente sin vomitarla.

La temperatura axilar se hace normal (37°3).

Durante todo el día queda en el lecho en un estado de gran postración, no pudiendo tomar alimento alguno. La orina es normal y no contiene albúmina.

5 de Diciembre.—P. se encuentra mejor, puede dejar el lecho y tomar algún alimento líquido. Se encuentra todavía muy abatido.

El primitivo color rojizo de la cara ha desaparecido y lo sustituye una coloración amarillenta sub-ictérica evidente, sobre todo en la esclerótica y sobre las mejillas.

9 de Diciembre.—P. está mejor, pero siempre muy abatido.

Practico asépticamente una sangría de 50 c. c. de sangre, de la cual extraigo cerca de 15 c. c. de suero límpido, de color amarillo limón, pero que no da la reacción de los pigmentos biliares. Este suero, agregado en la proporción de 1:10 á los recientes caldo-cultivos del *bacillus icteroide*, determina sólo en dos horas (á la temperatura de 37°) el fenómeno de la aglutinación é inmovilización, precipitando de un modo tan claro y completo todos los microbios, como si procediera de un animal vacunado.

16 de Diciembre.—El paciente se ha restablecido completamente.

Para evidenciar el valor y la significación de estas experiencias, que he tenido la suerte de poder efectuar en el hombre, no son necesarias largas disertaciones. Para todo el que haya observado personalmente algunos casos de fiebre amarilla, ó conozca la sintomatología de esta enfermedad por la lectura de los mejores tratados, las Observaciones III y IV corresponden exactamente á dos casos clásicos de fiebre amarilla, y la Observación V á repetidos ataques típicos de fiebre amarilla abortiva.

Como durante mis investigaciones en Río Janeiro sufrí uno de estos ataques, acompañado de todos los síntomas específicos que los caracterizan, debo declarar, basándome también en mi experiencia personal, que en el estado actual de nuestra ciencia experimental, los casos relatados representan todo lo más que se pueda pedir como demostración perentoria y absoluta, de la especificidad de un veneno microbiano.

Estas experiencias en el hombre han superado la más exigente expectativa. Ninguna descripción clínica podría pintar la infección amarilla en el hombre, con más vivos colores que los de las notas que acabo de transcribir, sencilla y lacónicamente, del protocolo de mis experiencias. Ningún médico, por poco versado que fuera en el conocimiento clínico de la fiebre amarilla, habría dudado un instante — en presencia de los sujetos de mis experiencias — en formular un diagnóstico inmediato y preciso en una localidad donde reinare la fiebre amarilla.

La reproducción experimental de esta enfermedad en el hombre, por medio de las toxinas elaboradas *in vitro* por su microbio específico, es, pues, un hecho adquirido que no admite ya objeciones de ninguna clase, y consagra definitivamente la especificidad del microbio que he aislado y descrito, considerándolo como el agente específico de la fiebre amarilla.

Las consideraciones que resultan de las experiencias descritas no se refieren exclusivamente á una sola faz de esta importante cuestión: iluminan muchos puntos que han quedado algo oscuros en nuestros estudios de patología comparada.

Merece fijar la atención el distinto modo de obrar del veneno icteroide, según se inyecte bajo la piel ó directamente en la sangre; se ha repetido, con más evidencia aún, en el hombre la intensa reacción local que habíamos ya señalado sobre todo en el perro y en el caballo.

La toxina amarillígena es, pues, un veneno celular sumamente activo, comparable bajo ciertos aspectos á la toxina diftérica. Por su contacto con los elementos del organismo animal determina, sobre todo en las clases superiores — como la toxina diftérica — una violenta irritación, seguida de procesos regresivos, que terminan siempre por necrosis y degeneración grasa del protoplasma.

Esto explica la génesis de esa esteatosis difusa que caracteriza de un modo tan constante á la fiebre amarilla en el hombre y en los animales superiores, y da también la explicación del porqué la inyección subcutánea del veneno determina fenómenos generales que no guardan relación con los que produce la misma dosis inyectada en las venas.

Es muy probable que las propiedades irritantes del veneno sean un obstáculo indirecto para su rápida absorción, á causa de las graves alteraciones circulatorias y nutritivas que determina en los tejidos con quienes se pone en contacto. Además, es también probable que una gran parte del veneno se agote en los variados procesos necrobióticos á que da origen en el trayecto de las primeras vías de su difusión.

Una cuestión digna del mayor interés, es la relativa á la dosis de veneno capaz de determinar el cuadro completo de la fiebre amarilla grave.

La cantidad que podría casi considerarse como mortal para un hombre adulto (5 c. c.), es cuatro veces inferior á la dosis mínima capaz de matar un cobaya ó un conejo.

De donde se deduce que la raza humana está dotada de una gran sensibilidad para el *veneno amarillígeno,* sensibilidad que no puede compararse ni aún lejanamente con la que poseen los pequeños animales de laboratorio.

Además, las susodichas experiencias nos enseñan que es inútil concentrar ó exaltar los productos microbianos para obtener en los animales inferiores efectos semejantes á los que producen en el hombre, y que no debe, por regla general, exigirse á los animales de laboratorio la demostración de la acción específica de un veneno microbiano.

Por lo que respecta á los síntomas y á las lesiones de la intoxicación amarilla experimental, los resultados obtenidos en el hombre confirman de una manera definitiva cuanto hemos tenido ocasión de notar, sobre todo al referirnos á las experiencias en los perros.

Los fenómenos más impresionantes de la fiebre amarilla: el *vómito negro* y la enterorragia, no son enteramente debidos á los efectos del virus específico existente en la cavidad gastro-intestinal, sino que se producen en virtud de la enérgica propiedad inflamatoria, degenerativa, hemorragípara y emética del veneno específico elaborado y que circula en la sangre. Se trata, pues, de una verdadera y propia gastro-enteritis hematógena.

La propiedad degenerativa manifiesta el *máximum* de su

acción específica, sobre todo en la célula hepática, sea porque presente una sensibilidad más grande que cualquier otro elemento anatómico, sea, como es más probable, porque el hígado, como órgano destinado — más que cualquier otro — á la destrucción y á la eliminación de los venenos microbianos, se encuentre debilitado por un trabajo superior á sus fuerzas.

Después del hígado, otro órgano precozmente atacado en la fiebre amarilla de todos los animales superiores, y sobre todo del hombre, es el riñón.

La albuminuria es, en efecto, uno de los síntomas más precoces del amarillismo; y la nefritis parenquimatosa, revelada por la anuria, que predice casi infaliblemente el término fatal de la enfermedad, indica el principio de la intoxicación urémica que hemos reproducido sistemáticamente en los animales superiores y en el hombre con pequeñas dosis de toxina.

Es, pues, muy probable que la causa inmediata de la muerte, en la mayor parte de los casos de fiebre amarilla, sea precisamente la insuficiencia renal, que favorece la retención en la sangre de las sustancias extractivas normalmente eliminadas por la orina, y que son, como es notorio, muy nocivas al organismo. La cantidad de urea, muy superior á la que se encuentra normalmente en la sangre (0 gr. 189 $^o/_{oo}$ según Gréhant) (1), sería nada más que un índice de esta intoxicación.

Como la sintomatología de la intoxicación urémica presenta mucha analogía con el cuadro clínico de la fiebre amarilla (cefalalgia, delirio, dispnea, vómito, estomatitis, diarrea, etc.), y como, por otra parte, el riñón es invariablemente uno de los primeros órganos atacados por la toxina icteroide, es bastante difícil establecer, *á priori*, cuáles son — en el segundo período de la enfermedad — los síntomas debidos á la insuficiencia renal, y cuáles los que produce el veneno amarillígeno.

Es sin embargo muy probable que una gran parte de la sintomatología amarilla sea producida por la insuficiencia re-

(1) La cifra más elevada observada por el mismo autor en sus experiencias de nefrotomía, ha sido la de 2 gr. 76 $^o/_{oo}$, cantidad inferior á la que hemos encontrado muchas veces en nuestras experiencias en los animales superiores y en el hombre.

nal, más bien que por el veneno específico. Hemos visto, en efecto, que en los pequeños roedores, en los cuales no se manifiesta nunca la insuficiencia renal, la enfermedad experimental sigue una marcha cíclica como en el hombre, pero sin reproducir uno solo de los múltiples síntomas clínicos que son propios de la fiebre amarilla de los animales superiores, en los cuales la lesión de los riñones constituye un fenómeno de los más precoces.

Además, en la historia clínica que acompaña la Observación V, hemos visto cómo, merced á las inyecciones de pequeñas dosis de cultivos filtrados, ha sido posible habituar rápidamente al hombre á tolerar una dosis muchas veces mortal, seguramente, de veneno amarillígeno; y puesto que, como veremos en adelante, este hecho no puede imputarse á la inmediata manifestación de un poder antitóxico por parte del organismo, ni á un fenómeno de acostumbramiento del sistema nervioso hacia el veneno específico, es muy probable que la tolerancia de una dosis varias veces mortal de veneno, haya podido verificarse en este caso, sin dar lugar á imponentes síntomas generales, gracias á la parcial integridad en que se mantiene el filtro renal durante todo el período de la experiencia.

En fin, de cualquier modo que quiera interpretarse el cuadro de la intoxicación amarilla, queda desde ahora bien sentado que son suficientes dosis muy pequeñas de toxinas, para obtener en el hombre un pronto acostumbramiento que hace tolerar dosis de veneno icteroide, que pueden considerarse muy superiores á la dosis mortal.

VI

Las infecciones mixtas en la fiebre amarilla

La microbiología de la fiebre amarilla en el hombre y en los animales superiores presenta, como hemos visto, un carácter que sólo tiene algunos puntos de contacto con los resultados bacteriológicos de otra enfermedad específica: la difteria.

La extraordinaria tendencia á las infecciones mixtas, y la facilidad con la cual éstas se producen casi siempre, han constituído hasta hoy el principal obstáculo para el conocimiento de la etiología del tifus icteroide.

Hemos visto, en efecto, que en casi todos los casos la invasión de ciertas especies microbianas se produce con tal rapidez y en número tan considerable, aún durante la vida, que es necesario preguntarse cómo se comporta el *bacillus icteroide* frente á estos nuevos huéspedes que se multiplican y difunden tan libremente en el ámbito de sus primitivos dominios.

Del conjunto de todas las observaciones y de todas las investigaciones que he reunido en este trabajo, resulta que se pueden establecer tres diferentes tipos bacteriológicos de la fiebre amarilla en el hombre.

El PRIMER TIPO es el que podríamos casi llamar normal, porque encuentra una reproducción exacta y constante en nuestras experiencias de laboratorio, sobre todo en los cobayas, en los conejos y á veces en los monos.

En él el *bacillus icteroide*, después de haberse refugiado en al-

guna víscera, y preparado en ella, durante el clásico período cíclico, el veneno específico — que es la causa principal de toda la fenomenología morbosa, — llegado al fin de dicho período se multiplica súbitamente, se difunde por todo el organismo — acompañado ó no de algún otro microbio llegado á última hora — y cumple el acto final de su ciclo biológico, matando al paciente.

El SEGUNDO TIPO está representado por aquellos casos en los cuales los datos de la investigación bacteriológica del cadáver son los de una septicemia pura ó de una infección mixta generalizada, con desaparición (?) ó suma escasez numérica de bacillus específicos.

En estos casos — que son los más frecuentes — la investigación y aislamiento del *bacillus icteroide* es imposible, ó sumamente difícil. Hemos dicho en otro lugar, que esto podría explicarse admitiendo que las infecciones secundarias se manifiestan cuando el *bacillus icteroide* no ha llegado aún al final de su ciclo biológico, en cuyo período se efectúa su multiplicación y difusión en el organismo.

Esta explicación marcharía de perfecto acuerdo con los resultados bacteriológicos de lo que hemos llamado TERCER TIPO, en el cual el organismo resulta casi estéril y la muerte puede considerarse como debida más bien á la insuficiencia renal.

No obstante hay que preguntarse si la accidental irrupción de microbios extraños en la sangre y la formación consecutiva de sustancias tóxicas específicas, no podrían influir por sí solas para determinar la total ó parcial desaparición del *bacillus icteroide,* atenuando su poder vegetativo ó matándolo directamente.

Hemos insistido más de una vez, en el curso de nuestras investigaciones en el cadáver, sobre el hecho de que el *bacillus icteroide* apenas aislado, sobre todo si se encuentra en pequeña cantidad y mezclado con otras especies microbianas, presenta desde el principio gran dificultad para desarrollarse en el caldo peptonizado simple. Era, por consiguiente, interesante para la biología del *bacillus icteroide,* y para una interpretación más exacta de los complejos resultados obtenidos en

las investigaciones bacteriológicas, estudiar las relaciones recíprocas entre el agente específico de la fiebre amarilla y los microbios que se encuentran más comunmente como causa de infecciones secundarias en el hombre y en los animales superiores.

Mis primeras investigaciones fueron instituídas *in vitro,* y con tal objeto estudié de diversos modos la manera de comportarse el *bacillus icteroide* con el *colibacillus,* el *streptococcus,* el *staphilococcus aureus* y el *proteus vulgaris.*

Convencionalmente pueden establecerse, para facilitar la exposición, dos formas de antagonismo entre especies microbianas diversas: un *antagonismo vital,* que se revela cuando una especie no puede vivir ó prosperar en donde vive y prospera otra, y un *antagonismo químico,* que se manifiesta cuando una especie no puede vivir ó prosperar donde ha vivido y prosperado otra.

Cualesquiera de estas dos formas de manifestarse el antagonismo microbiano, pueden parecer en el fondo como debidas á una misma causa; es decir, á productos tóxicos; resulta, sin embargo, de las experiencias de varios autores, que en realidad las cosas no pasan tan sencillamente. Un germen que no puede vivir, ni prosperar donde viven otros microbios, puede muy bien encontrar en los cultivos de los mismos, esterilizados, las mejores condiciones para su vida y multiplicación. Veremos, en efecto, que, en nuestro caso las experiencias *in vitro* hacen necesaria esta distinción (1).

Para estudiar el *antagonismo químico* he procedido de la siguiente manera: después de haber hecho desarrollar durante tres días en la estufa, sobre gelosa solidificada oblicuamente, los cultivos de los microbios en experiencia, he liquidado de nuevo el medio nutritivo, esterilizándolo al mismo tiempo, y solidificándolo de nuevo oblicuamente. Sobre estos nuevos medios he cultivado las varias especies en experiencia, según una serie completa de combinaciones, las cuales me permitieran ensayarlas todas recíprocamente.

(1) Véase De Giaxa: *Ueber das Verhalten,* etc. (*Zeitsch., fur Hygiene,* 1892; VI, p. 207 y sig.)

El resultado del conjunto de estas investigaciones está resumido sumariamente en la siguiente tabla:

Cultivos sobre gelosa esterilizada y después solidificada, de los siguientes microbios:	Éxito de la siembra hecha con:			
	Staphilococcus aureus	Bacillus icteroide	Colibacillus	Proteus vulgaris
Staphilococcus aureus.......	++ (1)	—	+	++
Bacillus icteroide...........	+++	+	+	++
Colibacillus.................	++	—	+	++
Proteus vulgaris............	+	—	trazas	++

De ella se deduce que los productos solubles del *bacillus icteroide* son los que menos obstaculizan el desarrollo de todos los otros microbios, mientras que los del *proteus vulgaris* parecen ser los más venenosos y nocivos. Este último y el *staphilococcus aureus* se desarrollan, en efecto, perfectamente donde han vivido todos los demás, y sobre todo donde se ha desarrollado el *bacillus icteroide.* Éste, en cambio, no es capaz de vivir donde existen productos solubles de los *staphilococcus,* de los *colibacillus* y de los *proteus.*

Resulta, pues, de todo esto, que en comparación con los microbios examinados, el *bacillus icteroide* se encuentra siempre en muy inferiores condiciones biológicas de resistencia.

Es, por lo tanto, posible que una de las causas por las cuales no se llega fácilmente á aislar el *bacillus icteroide* de los cadáveres de individuos que han sucumbido por fiebre amarilla, sea precisamente debida á la enérgica acción bactericida de los productos tóxicos elaborados en el mismo organismo, por los bien conocidos microbios que allí se encuentran constantemente como agentes de infecciones secundarias.

Es indiscutible que muchos enfermos de fiebre amarilla sucumben de improviso por septicemia á *streptococcus,* á *coli-*

(1) El número de las + indica la intensidad de los cultivos desarrollados.

bacillus, etc.; y fácilmente se comprende cómo la rápida é imponente multiplicación de estos microbios, deba inundar al organismo de tal cantidad de productos tóxicos, que mate ó atenúe notablemente los pocos microbios específicos situados muy probablemente en el interior de alguna víscera, y no llegados aún á su período de reproducción activa.

En cuanto á la otra forma de antagonismo, el *antagonismo vital*, es fácil ponerlo en evidencia, sea cultivando á un tiempo dos ó más especies microbianas en un mismo medio líquido, sea practicando sobre una placa de gelosa solidificada, dos siembras sucesivas *en cruz*, por estriamiento, perpendiculares entre sí y sacados en cada caso de los dos cultivos diferentes que se quieran experimentar.

El primer método es de fácil aplicación solamente entre dos microbios morfológicamente muy distintos entre sí, como, por ejemplo, entre el *streptococcus* y el *bacillus icteroide.*

Con relación al modo de comportarse de estos dos microbios, mis investigaciones *in vitro*, han dado los siguientes resultados:

1.° En los tubos de gelosa esterilizada y vuelta á solidificar después de haber cultivado por siete días el *bacillus icteroide*, el *streptococcus* se desenvuelve con mucha más rapidez y abundancia que en los tubos de gelosa nuevos sembrados para control.

2.° Cultivando juntos, en un mismo tubo de caldo lactosado, el *bacillus icteroide* y el *streptococcus*, este último se desarrolla con mayor abundancia y forma cadenas mucho más largas que las que se observan en los tubos de caldo lactosado sembrados como antes para control.

3.° Sembrando el *bacillus icteroide* en viejos cultivos de *streptococcus* (de 4-6-13 días) en caldo lactosado, en los cuales las cadenillas se habían depositado por completo en el fondo, devolviendo al líquido su primitiva transparencia, no se desarrolla absolutamente y no altera en lo más mínimo esta transparencia.

4.° Sembrando el *streptococcus* en viejos cultivos (de 11 días) no esterilizados, de *bacillus icteroide* en caldo lactosado, el

streptococcus se desarrolla rápida y abundantemente, formando filamentos de extraordinaria longitud.

5.° Sólo cultivando juntos el *bacillus icteroide* y el *streptococcus* en caldo simple peptonizado, donde este último crece con mucha mayor dificultad que en los caldos azucarados, el *bacillus icteroide* se desarrolla con mayor abundancia, aventajando al *streptococcus*.

En conclusión, se deduce:

1.° Que cuando las condiciones de desarrollo son iguales, el *streptococcus* tiene siempre superioridad sobre el *bacillus icteroide*.

2.° Que el *streptococcus* puede desarrollarse bien donde se ha desarrollado el *bacillus icteroide*, mientras que sucede lo contrario con respecto á este último.

Pero un antagonismo vital, aún más notable que el del *streptococcus*, es el del *staphilococcus aureus* con el *bacillus icteroide*. Para demostrarlo de una manera evidente, basta efectuar dos siembras *en cruz*, por estriamiento, sobre una placa de gelosa, con la aguja de platino introducida sucesivamente en un cultivo en caldo de entrambos microbios.

Cualquiera que sea el modo con que se haya practicado la siembra, *el staphilococcus aureus se propaga é invade sistemáticamente aún la línea de inoculación del bacillus icteroide*, de tal modo que, después de 24 horas, la placa de gelosa, en vez de presentar dos estrías perpendiculares, una amarilla y otra gris-iridiscente, presenta una cruz completamente amarilla.

He tentado hacer las inoculaciones en cruz, con diferencia de 24 horas entre una y otra, ó efectuar las siembras invirtiendo el orden; pero he obtenido constantemente los mismos resultados: aun cuando el *staphilococcus aureus* llegue á agregarse á un cultivo de *bacillus icteroide*, lo invade completamente y casi lo aniquila, bajo su vigoroso desarrollo. Esta última especie, por el contrario, á medida que su trazo de inoculación se acerca al del *staphilococcus*, presenta un desenvolvimiento cada vez más limitado y mezquino.

Entre el *bacillus icteroide* y el *staphilococcus aureus*, existe, por lo tanto, un antagonismo vital bien desarrollado, con completa ventaja para el segundo.

Después del *staphilococcus* y del *streptococcus*, he querido estudiar la manera de comportarse con el *bacillus icteroide*, otro microbio que se encuentra muy fácilmente en las infecciones mixtas de la fiebre amarilla: el *colibacillus*.

Hay que advertir que el *colibacillus* no presenta ningún antagonismo con el *staphilococcus aureus:* las dos especies pueden desarrollarse paralelamente, mezcladas ó independientemente, tanto en los cultivos en caldo, como en los cultivos en cruz en la superficie de las placas de gelosa.

Con todo, en el estudio de las relaciones entre el *bacillus icteroide* y el *colibacillus*, se descubre un antagonismo manifiesto, aunque menor que el ya señalado entre el *staphilococcus aureus* y el *bacillus icteroide*. En efecto, sembrando en cruz sobre placas de gelosa el *bacillus icteroide* y el *colibacillus*, se obtienen siempre *tres* brazos ocupados por este último y *un* solo brazo ocupado por el primero.

Se reconocen muy bien, aún sin recurrir á transportes en caldo lactosado (que resuelven siempre rápidamente cualquier duda), los brazos ocupados por el *colibacillus*, porque son más largos, más recortados y más abundantes que los formados por el *bacillus icteroide*.

Los resultados de estas experiencias explican, pues, suficientemente, el éxito negativo de la investigación del *bacillus icteroide*, que hemos tenido que lamentar muchas veces en nuestras investigaciones sobre el cadáver, y probablemente han constituído hasta ahora el principal obstáculo al descubrimiento del agente específico de la fiebre amarilla.

Sin embargo no pueden dar razón de otro fenómeno que acompaña casi constantemente el cuadro bacteriológico de esta enfermedad, esto es, de la causa de las infecciones mixtas.

¿Por qué la fiebre amarilla debe considerarse como el tipo clásico de una enfermedad que termina siempre con una infección mixta?

El hecho de que en ella se encuentre un veneno muy activo capaz de favorecer las invasiones microbianas secundarias, no debe exagerarse mucho, porque también en todas las otras enfermedades infecciosas en las que la infección mixta no es la

regla, el período final está caracterizado por la supresión gradual y progresiva de toda resistencia celular.

Existen además otras enfermedades de naturaleza eminentemente tóxica, como, por ejemplo, el tétano, en las cuales el organismo no es invadido por la flora microbiana intestinal.

Tampoco debe atribuirse demasiada importancia á las lesiones del aparato digestivo, porque en la fiebre amarilla no siempre son notables, y en segundo lugar, porque se conocen otras enfermedades de localizaciones intestinales mucho más graves (cólera, fiebre tifoidea, envenenamientos, etc.), en las cuales las infecciones mixtas no son ni con mucho la regla, y en todo caso no adquieren el desarrollo que hemos estudiado tan detenidamente en la fiebre amarilla.

Para resolver de una manera experimental este último punto oscuro en la patogenesis de la fiebre amarilla, he verificado muchas investigaciones en los cobayas y en los conejos (únicos animales en los cuales es posible establecer casi exactamente y con anterioridad el día de la muerte), inoculando primero la dosis mortal de *bacillus icteroide*, y después, con diferentes intervalos, antes de la muerte, pequeñas dosis no mortales de *colibacillus*, de *proteus*, de *staphilococcus*, etc.

Los resultados obtenidos no fueron concluyentes: fué siempre el *bacillus icteroide* quien al final del período cíclico invadió en cultivo puro el organismo, matando al animal. La generalización de los otros microbios no pude constatarla sino excepcionalmente.

Además de esto, resulta de los protocolos de la primera y de esta segunda parte de mi trabajo, que en los cobayas y en los conejos, cualquiera que sea la duración de la enfermedad, la investigación bacteriológica del cadáver encuentra siempre al *bacillus icteroide* en estado de absoluta pureza; en cambio, en el perro, en la cabra y en el mono, es frecuente hallar el bacillus específico mezclado al *streptococcus*, al *colibacillus*, ó al *staphilococcus*.

Por último, en la Experiencia IV, en el hombre, hemos visto que la sola inyección del veneno amarillígeno fué capaz de determinar la presencia del *colibacillus* en los riñones.

Ahora bien, tomando en cuenta estos varios resultados, y comparando entre sí las causas que podrían considerarse como capaces de favorecer *sólo en determinadas especies animales* la aparición de infecciones secundarias, resulta que existe una sola diferencia fundamental entre las lesiones anatómicas presentadas por los animales que mueren con cuadro bacteriológico puro y los que mueren con el cuadro bacteriológico de infección mixta, y esta diferencia la constituye la lesión hepática.

En efecto, en la célula hepática de la cabra, del perro, del mono y del hombre, el veneno amarillígeno determina una profunda lesión degenerativa, mientras que no tiene casi acción sobre la célula hepática de los pequeños roedores; por esto, en los primeros la infección secundaria espontánea es frecuente y el curso de la enfermedad está subordinado á otros factores, mientras que en los segundos la infección secundaria no se verifica y la enfermedad cumple regularmente su ciclo evolutivo.

Hoy que un gran número de hechos importantes autorizan á considerar al hígado como un órgano dotado de una función activa, no sólo contra los venenos, sino aún contra los mismos microbios patógenos, se puede muy bien admitir que la lesión específica de la célula hepática sea la causa principal de las constantes invasiones microbianas secundarias, en una enfermedad que se distingue de todas las otras por los profundos y constantes procesos degenerativos específicos que tienen su asiento en el más importante órgano de defensa contra las invasiones de los microbios intestinales.

VII

La fiebre amarilla á bordo de los buques

La propagación marítima de la fiebre amarilla es ya un hecho tan sólidamente establecido, que no queda sino investigar la causa, basándose en los conocimientos que hemos adquirido hasta ahora con respecto á la biología de su microbio específico.

El comportamiento de la fiebre amarilla á bordo de los buques difiere del de otra grave enfermedad epidémica, el cólera; este último, una vez introducido á bordo, estalla atacando rápidamente á todos los que — casi podría decirse — debe atacar.

La gravedad de esta explosión varía según la cantidad y la energía del vibrión colérico, y según la predisposición de los sujetos; pero al fin, una vez efectuada esta especie de acto de presencia, el vibrión colérico parece no encontrar en las condiciones ordinarias del medio náutico, un terreno muy favorable á su desarrollo. Faltando esta especie de intermediario entre el hombre y el agente colerígeno, sobre todo si se toman buenas medidas de desinfección, la enfermedad se extingue.

La fiebre amarilla, al contrario, una vez instalada á bordo de una nave, se mantiene tenazmente, y por mucho tiempo, conservándose sobre todo en la bodega, depósitos, mercaderías, y en todo ambiente estrecho y cerrado. Es, con efecto, opinión

muy comunmente admitida, la que considera los navíos viejos y usados, como los más fáciles de contaminarse y los más impropios para el servicio, en los países en donde la fiebre amarilla es endémica.

Todos los que se ocupan de higiene naval, consideran como *buques de fiebre amarilla,* los tipos de navíos insuficientemente aereados, munidos de aberturas muy pequeñas, en donde se estagna superiormente aire viciado, inferiormente humedad fétida.

Humedad, calor, oscuridad y falta de ventilación, parecen, pues, los coeficientes más propios para la conservación del *bacillus icteroide;* pero sabemos que en el estado actual de nuestros conocimientos, no es posible atribuir á estos varios coeficientes ningún valor específico, por cuanto representan otras tantas condiciones que podrían militar en favor de todos los microbios en general. Se debe, pues, buscar en algún otro elemento concomitante, la causa que favorece de una manera casi específica el *habitat* náutico del *bacillus icteroide.*

Un sencillo fenómeno que durante estos estudios ha llamado en varias circunstancias mi atención, me ha explicado, de una manera original, la causa probable de esta misteriosa longevidad y resistencia del *bacillus icteroide* á bordo de los navíos.

El bacillus de la fiebre amarilla, como la mayor parte de los microbios patógenos, para poder vivir y desenvolverse bien — sobre todo en los medios sólidos — necesita calor, humedad, y un material nutritivo conveniente; las dos primeras condiciones pueden ser relativas, pero esta última es absoluta.

La gelatina ordinaria, por ejemplo, no puede considerarse como un medio nutritivo muy favorable, cuando se mantiene á la temperatura del ambiente; sucede, en efecto, con cierta frecuencia, en las investigaciones corrientes, que los cultivos en placas queden estériles aún siendo á veces enorme la cantidad de gérmenes sembrados. En este caso la gelatina, aún en perfectas condiciones de temperatura, puede permanecer estéril para siempre.

No me ha sido posible hallar la razón de este extraño fenómeno, que se realiza sobre todo cuando los cultivos en pla-

cas se hacen directamente por siembra de sangre de perro ó conejo muertos por infección general; á pesar de que en cada caso se comprobara la existencia de gran cantidad de microbios en el material empleado, por medio de siembras en estría practicadas al mismo tiempo sobre placas de gelosa.

Cualquiera que sea la causa de este inexplicable fenómeno, el hecho es que las cajas de Petri pueden quedar á veces durante varias semanas sin presentar una sola colonia desarrollada en su superficie; pero, como sucede casi siempre en estos casos, después de una estadía tan larga en un ambiente mal resguardado del polvo atmosférico, concluye por germinar algún *moho* en la vieja placa de gelatina. Apenas el moho comienza á desarrollar su micelio, aparece inmediatamente al rededor de él una corona de pequeñas colonias puntiformes formadas por el *bacillus icteroide.* A medida que el moho crece, las colonias van siendo cada vez más numerosas, y la zona por ellas ocupada, al rededor del césped central formado por el moho, se va extendiendo rápidamente.

Después de algunos días, las placas de gelatina en las que se han desarrollado accidentalmente estos hyfomicetes, presentan un aspecto muy original; al rededor de cada uno de los mohos, las colonias del *bacillus icteroide* — que se hubiera podido creer muerto ó incapaz de desarrollarse después de tanto tiempo — forman una especie de constelación, tanto más numerosa, cuanto más próxima se encuentra del punto ocupado por el moho.

Podría, pues, decirse que el moho posee una especie de *radio de influencia,* dentro de cuya órbita es únicamente posible el desarrollo de las colonias icteroides. Este *radio de influencia* es más ó menos extendido, según la especie de moho y el espacio por él ocupado, pero es siempre perfectamente regular, uniformemente distribuído y equidistante del centro, representado por el césped del hongo. Fuera de este *radio de influencia* — siempre muy bien limitado — cesa bruscamente el desarrollo de las colonias microbianas, y el resto de la gelatina continúa permaneciendo estéril, á menos que algún nuevo esporo dé lugar á la formación de nuevos micelios, que á su

vez son inmediatamente rodeados y encerrados por una nueva pululación de colonias icteroides.

Esta propiedad de los hyfomicetes de favorecer el desarrollo del *bacillus icteroide,* puede también demostrarse experimentalmente, sembrando los esporos de un moho cualquiera, en una placa de gelatina inoculada precedentemente con microbios icteroides, pero que haya permanecido estéril durante largo tiempo.

Es muy probable que esta facultad constituya un carácter común á todos los mohos en general, puesto que las seis especies que he aislado accidentalmente en el laboratorio, se han mostrado todas, aunque en diverso grado, igualmente capaces de favorecer la reviviscencia y multiplicación del microbio icteroide, que de otra manera no habría sido capaz de desarrollarse.

Es, por otra parte, posible que exista en la naturaleza — sobre todo en las localidades donde la fiebre amarilla se instala con gran vigor — algún moho desconocido hasta hoy y dotado de un poder favorecedor verdaderamente específico y mucho más notable aún.

Este extraño parasitismo, que podría definirse *por préstamo de los medios de existencia;* esta rara forma de saprofitismo microbiano, representa probablemente la causa principal de la fiebre amarilla á bordo de las naves.

Es, en efecto, sumamente probable que, sobre todo en la bodega de los buques mal aereados, no sea sólo el legendario calor húmedo, considerado en sus efectos físico-químicos, el que mantiene vivo durante tan largo tiempo al microbio de la fiebre amarilla accidentalmente llegado hasta allí.

En la bodega de los buques, á pesar del calor húmedo, no prosperan ni se mantienen activos por mucho tiempo otros microbios patógenos como los del cólera, tifus, etc. En lo que se refiere á la fiebre amarilla, el calor húmedo y la aereación insuficiente podrían ser considerados, ante todo, como condiciones indispensables para el desarrollo de los mohos, y después como *indirectamente* favorables á la vitalidad del *bacillus icteroide.*

Este fenómeno de comensalismo, muy análogo al que Metchnikoff ha señalado hace tiempo para el vibrión colérico, está de acuerdo y explica muchas otras observaciones prácticas bien conocidas, que forman parte de la epidemiológica de la fiebre amarilla, y sobre las cuales creo inútil extenderme más.

VIII

Resistencia del "bacillus icteroide" á los agentes físico-químicos naturales

Con el objeto de completar nuestros conocimientos sobre la biológica de un microbio contra el cual deberá establecerse en adelante, sobre bases científicas, una activa defensa en todas las localidades castigadas por la fiebre amarilla, he creído oportuno agregar algunas investigaciones acerca de la resistencia que presenta á la acción del calor, de la luz, de la desecación y del agua del mar.

La mayor parte de estas investigaciones han sido efectuadas por mi excelente preparador señor E. Puppo, con la exactitud que lo distingue.

A.—RESISTENCIA DEL «BACILLUS ICTEROIDE» AL CALOR HÚMEDO

El método seguido es el empleado en todos los laboratorios; consiste en calentar en el baño-maría pequeños tubos de vidrio delgado conteniendo caldo-cultivos del *bacillus icteroide*.

Los resultados obtenidos están resumidos en la siguiente tabla núm. 1:

TABLA núm. 1

DURACIÓN DE LA ACCIÓN DEL CALOR	Resultado de los cultivos hechos después de la acción de las siguientes temperaturas:				
	50°	55°	60°	65°	70°
0 control	+	+	+	+	+
1 minuto	+	+	+	—	—
3 »	+	+	—	—	—
5 »	+	+	—	—	—
8 »	+	+	—	—	—
10 »	+	+	—	—	—
15 »	+	+	—	—	—
20 »	+	—	—	—	—
25 »	+	—	—	—	—

Estos resultados demuestran que el agente específico de la fiebre amarilla, lo mismo que el de la difteria, del muermo, del tifus, del cólera, etc., es uno de los menos resistentes al calor húmedo. En efecto, la temperatura relativamente poco elevada de 60° lo mata en pocos instantes, y la de 65° lo mata inmediatamente.

B.—RESISTENCIA DEL «BACILLUS ICTEROIDE» AL CALOR SECO

Esta serie de investigaciones fué verificada con hilos de seda embebidos en caldo-cultivo, secados en la estufa á 37°, y colocados al calor seco en una común esterilizadora de aire caliente. La extracción de cada hilo de seda de la estufa, á medida que el calor iba lentamente subiendo de 5 en 5 grados, se hacía de manera de no modificar sensiblemente la temperatura del aparato.

Los resultados de las siembras, repetidamente confirmados, demostraron que el *bacillus icteroide* expuesto al calor seco, muere solamente entre los 120° y 125° C. Es necesario 1 hora

y 10 minutos para matarlo á la temperatura de 100°. Esto confirma la mala reputación del aire caliente como agente de esterilización.

C. — RESISTENCIA DEL «BACILLUS ICTEROIDE» Á LA DESECACIÓN

Por razones que sería superfluo detallar, estas investigaciones presentan, desde el punto de vista epidemiológico, un grande interés. En los países de fiebre amarilla se citan frecuentemente casos de contagio ocurridos en individuos que habían vuelto á ocupar lugares donde varios meses antes había muerto algún enfermo de tifus icteroide.

Estas experiencias fueron practicadas, como anteriormente, con hilos de seda, que fueron expuestos — entre dos cápsulas de vidrio esterilizadas — á la temperatura de 37°5 C. en la estufa, y á la del ambiente en una habitación del Instituto.

Los resultados fueron los siguientes:

Las siembras hechas con hilos expuestos á la desecación á 37°5, comenzaron á ser estériles después de 35-37 días. Después de 40 días, ocho hilos sobre veinte quedaron estériles. Pasados los 50 días, todos los hilos eran completamente estériles.

Las siembras efectuadas con hilos desecados en la estufa á 37° durante 24 horas y luego expuestas á la temperatura variable del ambiente, fueron siempre positivas hasta los 168 días (del 23 de Octubre de 1896 hasta el día de hoy, 30 de Marzo de 1897).

Este resultado nos autoriza para creer que la desecación espontánea á la temperatura ambiente permite al *bacillus icteroide* conservar su vitalidad de un modo notable, y desde el punto de vista de la higiene práctica tiene una grande importancia, porque permite suponer el contagio de la fiebre amarilla por medio del polvo atmosférico.

D.—RESISTENCIA DEL «BACILLUS ICTEROIDE» Á LA ACCIÓN DE LA LUZ SOLAR DIRECTA

Aunque en todos los casos se haya obtenido una esterilización más ó menos rápida de los cultivos, la acción de la luz solar sobre el *bacillus icteroide*, cultivado en medios sólidos y líquidos, ha dado siempre resultados inconstantes.

Estos resultados se comprenden perfectamente, considerando que la acción bactericida de la luz solar sobre los cultivos microbianos, se efectuaría sólo en virtud de variados é inconstantes procesos de oxidación que se verifican en el medio nutritivo.

He preferido por esto, emplear también en este caso, los hilos de seda, previamente desecados á 37°, y luego expuestos al sol.

Los resultados están expuestos en la siguiente tabla, número 2:

TABLA núm. 2

Duración de la acción solar	Temperatura exterior (al sol)	Resultado de los cultivos
0 control	28°1	+
horas 0.30'	28°0	+
» 1.0'	27°6	+
» 1.30'	28°0	+
» 2.0'	27°5	+
» 2.30'	28°0	+
» 4.30'	27°8	+
» 5.0'	27°4	+
» 5.30'	27°2	+
» 6.0'	27°5	+
» 6.30'	27°7	+
» 7.0'	28°2	+
» 7.30'	27°4	—
» 8.0'	28°5	—
» 8.30'	27°3	—
» 9.0'	27°2	—

La luz solar directa, á la temperatura estival, mata, pues, al *bacillus icteroide* en estado seco, en poco más de siete horas. Su acción esterilizada sería casi igual á la que, según los resultados de varios autores, ejercería sobre el *bacillus carbunculoso,* y mucho más activa que la que, según otros, tendría sobre el *bacillus prodigiosus,* el *bacillus pyocyaneus,* los *staphilococcus* y el *vibrión colérico.*

E. — RESISTENCIA DEL « BACILLUS ICTEROIDE » EN EL AGUA DEL MAR

Como la fiebre amarilla ha sido siempre considerada una enfermedad cuyas relaciones con la localidad marítima no es ya del caso discutir, he creído conveniente estudiar el modo de comportarse de su agente específico con el agua del mar, la cual podría representar un vehículo de contagio que merece fijar toda nuestra atención.

En tesis general, sabemos por un apreciable estudio de *De Giaxa* (1), que algunos microbios patógenos (cólera, carbunclo, tifus, *staphilococcus aureus*) viven bastante bien y pueden aún prosperar en el agua del mar, cuando no se encuentran empeñados en una lucha de concurrencia vital con otros gérmenes antagonistas. Pero esta lucha no siempre es la regla. El mismo *De Giaxa* ha encontrado, por ejemplo, que si en el agua del mar existen algunos microbios antagonistas del *bacillus carbunculoso,* en cambio hay otros que consienten perfectamente bien su desarrollo.

También *Metchnikoff* (2), como es notorio, ha observado que se encuentran en el agua microbios antagonistas y favorecedores de los vibriones del cólera.

Es, por consiguiente, de todo punto imposible reproducir experimentalmente todas las condiciones y todas las vicisitudes bio-

(1) *Ueber das Verhalten liniger path. Mikroorg. im Meerwasser* (*Zeitschr. f. Hygiene,* 1889. — VI, pág. 162).

(2) *Sur l'immunité et la réceptivité vis-à-vis du choléra intestinal* (*Annales de l'Institut Pasteur,* 1894. — Pág. 599).

lógicas á que está expuesto un microbio patógeno durante su existencia en el medio hídrico.

La constitución del medio, el múltiple y variado contacto de la flora acuática, la dilución, el movimiento, las vicisitudes de la contaminación, la influencia de la luz, las variaciones de temperatura, de profundidad y otros infinitos factores, son otras tantas condiciones imposibles de reproducir *in vitro*, pero que tienen necesariamente que influir favorable ó desfavorablemente sobre los microbios, sea aisladamente, sea en virtud de una serie de combinaciones que pueden variar al infinito.

Es, pues, evidente que una mezcla artificial de agua de mar natural con un microbio patógeno, en un matraz — donde los microbios hídricos, más habituados y en consecuencia más fuertes, se multiplican rápida y cómodamente en proporciones indefinidas — no puede realizar las condiciones que actúan en el ambiente hídrico, donde por el solo hecho de la simple dilución y del movimiento, las proporciones del contenido microbiano se mantienen *cœteris paribus* casi constantes.

He creído, pues, trabajo inútil hacer investigaciones con agua de mar natural; su resultado no habría tenido ningún valor práctico.

He preferido, por lo tanto, y he encontrado más cómodo al mismo tiempo, ensayar el comportamiento del *bacillus icteroide* en el agua de mar esterilizada por el calor, ó filtrada por la bujía Chamberland, considerándola así desde el solo punto de vista nutritivo.

Las aguas estudiadas fueron: la del Río de la Plata, sacada en el puerto de Montevideo, y la de mar, tomada en el puerto de Río Janeiro.

La diferencia de composición química entre las dos aguas es, como se sabe, notable.

El agua del Río de la Plata, cerca de Montevideo, resulta de una mezcla de agua dulce y de agua salada. En efecto, mientras el agua del mar tomada en Río Janeiro contiene el 29.25 $^{o}/_{oo}$ de Na Cl, la del Río de la Plata, en el momento en que empezaron mis experiencias, contenía el 5.67 $^{o}/_{oo}$. Digo que tal era el contenido salino en el momento de mis expe-

riencias, porque la composición química del agua del Río de la Plata es sumamente variable y depende del mayor ó menor grado de dilución que éstas sufran con las del mar, á consecuencia de las mareas, de las corrientes y de muchas otras causas que es inútil recordar aquí.

El agua del puerto de Montevideo no es muy rica en microbios, á pesar de que reciba las aguas servidas de toda la ciudad: contiene solamente un *mínimo* de 200 y un *máximo* de 720 por c. c. La filtración le hace perder una pequeña parte de cloruro de sodio (el 0.74 °/₀₀).

En esta agua del Río de la Plata, *esterilizada,* el *bacillus icteroide* permanecía vivo aún después del 90.° día, en que interrumpí toda observación ulterior.

En la *filtrada,* repartida en 3 matraces, obtuve el siguiente resultado: el matraz núm. 1 resultó estéril después de 37 días, el núm. 2 después de 78 días, y el núm. 3 después de 71 días.

El agua del puerto de Río Janeiro contiene: antes de filtrada, 29.25 °/₀₀ de Na Cl, y después, sólo 25.74 °/₀₀.

El *bacillus icteroide* puede vivir en las dos clases de agua durante mucho tiempo. Mis investigaciones lo encontraron allí constantemente hasta el 50.° día.

Esta notable vitalidad del *bacillus icteroide* en el agua del mar — considerando, como se comprende, á esta última como un medio enteramente pasivo, — debe tomarse en seria consideración en todas las cuestiones de higiene pública en las cuales el agua del mar deba desempeñar un papel cualquiera.

IX

Resumen general del proceso morboso y de la epidemiología de la fiebre amarilla

Los resultados de esta segunda parte completan y confirman de un modo definitivo, todo cuanto hemos expuesto en la precedente, con relación á la etiología y patogenia de la fiebre amarilla.

El valor de estos resultados está basado, sobre todo, en esto: que inoculando en los varios animales los productos tóxicos del *bacillus icteroide,* se obtienen los mismos síntomas y las mismas lesiones anatómicas que hemos descrito anteriormente como debidas al empleo de los microbios vivos; lo que demuestra, una vez más, que el cuadro morboso de la enfermedad — tanto en el hombre como en los animales — es debido á un proceso especialmente tóxico, producido por las sustancias activas fabricadas por el *bacillus icteroide,* á cuyo conjunto hemos dado el nombre de *veneno amarillígeno.*

El *veneno amarillígeno* tiene una acción poco marcada y poco característica en aquellos animales que, aún en presencia del virus vivo, se muestran dotados de una reacción poco específica: tales son los pequeños roedores.

Pero cuando se inocula en el organismo del animal reactivo por excelencia, esto es, en el *perro,* se provocan todos los síntomas y todas las lesiones anatómicas que hemos ya notado empleando el virus, y sobre cuya identificación con los datos

clínicos y anatómicos de la infección icteroide humana, no es ya necesario insistir.

La intoxicación amarillígena en el perro, además de reproducir la sintomatología y las lesiones específicas de la fiebre amarilla, determina la insuficiencia renal y favorece la aparición de las características infecciones secundarias (á *streptococcus, staphilococcus, colibacillus*), completando de este modo, con los datos químicos y bacteriológicos, la reproducción exacta de cuanto hemos señalado en la fiebre amarilla del hombre (1).

El estudio de la intoxicación amarillígena en la *cabra* ha puesto en evidencia, de una manera verdaderamente extraordinaria, el enérgico poder hemolítico del veneno icteroide, dándonos, al fin, una explicación plausible de las sufusiones azuladas, apizarradas ó rojo-parduscas, que se encuentran con tanta frecuencia en el tejido celular subcutáneo de los enfermos y de los cadáveres de fiebre amarilla.

Es muy probable, especialmente en los casos en los cuales no se llega á obtener la reacción de los pigmentos biliares en la sangre y en la orina, que la pigmentación amarillo-paja característica de la piel, que se manifiesta después de la desaparición de las sufusiones susodichas, y muy á menudo varias horas después de la muerte, sea debida simplemente á un proceso ulterior de oxidación de la sustancia colorante de la sangre, que ha quedado impregnando los tejidos. Se trataría en estos casos, de una *ictericia hemática,* ó mejor *hemoglobínica,* como la que se observa muy frecuentemente en los casos de exagerada destrucción globular, acompañada de insuficiencia hepática (envenenamientos por óxido de carbono, hidrógeno arsenical, acetilfenilhidrazina, etc.).

(1) Algunas experiencias verificadas durante la redacción de la presente memoria, me han revelado un método, tan simple como seguro, para determinar en los perros una rápida é intensa degeneración grasosa de hígado. Este método consiste en inyectar, á través de las paredes abdominales, directamente en el tejido hepático, una porción de cultivo sobre gelosa diluída en algunos c. c. de caldo. Matando el animal después de 3-4 días, se encuentra la mayor parte del hígado atacado de una esteatosis semejante á la fosfórica. Los preparados microscópicos del tejido fresco, tratados ó no por el ácido ósmico, muestran una verdadera mezcla de grandes gotas de grasa y de células hepáticas completamente degeneradas.

La nefritis y la intoxicación urémica consecutiva, en el envenenamiento icteroide de la cabra, no hace más que confirmar la acción específica de este veneno sobre el parénquima renal, que después del hepático, es el que se encuentra siempre más gravemente atacado.

La extrema sensibilidad demostrada por el *asno* hacia la toxina específica, nos ha permitido asistir á la manifestación de tres importantes fenómenos: dos de ellos, la hematuria y las infecciones secundarias, son bastante conocidos y frecuentes; pero el otro, la *mastorragia,* no ha sido todavía descrita por ningún autor, y representa indudablemente la más alta manifestación de las propiedades hemorragíparas del amarillismo.

En cuanto á las experiencias sobre caballos, puede decirse que por ahora no han hecho sino demostrar la extremada sensibilidad de estos animales hacia la toxina icteroide, sobre todo cuando es inoculada por la vía subcutánea.

Pero lo que debe fijar sobre todo nuestra atención — y es lo que constituye indudablemente la parte más interesante de todas estas investigaciones sobre el veneno amarillígeno — es la experimentación sobre el organismo humano.

Han bastado pocas, pero bien determinadas experiencias, para iluminar con una claridad verdaderamente imprevista, todo el mecanismo patogénico, tan oscuro y tan mal interpretado hasta ahora, del tifus icteroide.

Resumir las conclusiones de dichas experiencias sería reproducir lo que ya hemos expuesto anteriormente de una manera sucinta; sería comentar el cuadro de patología tropical, que hemos trazado á grandes rasgos al principio de la primera parte de este trabajo.

La inyección de los cultivos filtrados, á dosis relativamente pequeñas, reproduce en el hombre la fiebre amarilla típica, acompañada de todo su imponente cortejo anatómico y sintomatológico.

La fiebre, las congestiones, las hemorragias, el vómito, la esteatosis del hígado, la cefalalgia, la raquialgia, la nefritis, la anuria, la uremia, la ictericia, el delirio, el *colapsus;* en fin, todo el conjunto de elementos sintomáticos y anatómicos cuya apre-

ciación constituye la base indivisible del diagnóstico de la fiebre amarilla, lo hemos visto desarrollarse á nuestra vista merced á la poderosa influencia del veneno amarillígeno fabricado en nuestros cultivos artificiales.

Este hecho no sólo representa un brillante documento de convicción en favor de la especificidad del *bacillus icteroide*, y un éxito de primer orden en el campo, ya tan rico en triunfos, de la ciencia experimental, sino que asienta sobre bases completamente nuevas, la concepción etiológica y patogénica de la fiebre amarilla.

Eliminada así la teoría dominante, que consideraba al tubo digestivo, y sobre todo al estómago, como el foco del amarillismo, únicamente porque los fenómenos gastro-intestinales eran los que habían llamado hasta ahora más vivamente la atención del clínico; demostrado que todos esos imponentes fenómenos no son debidos sino al veneno específico que se elabora y circula en la sangre, la fiebre amarilla entra inmediatamente en la misma categoría de enfermedades en que yo he colocado, hace ya tiempo, otro gran proceso morboso, que antes de mis investigaciones había sido siempre mal interpretado: me refiero á la fiebre tifoidea.

Todos los fenómenos sintomáticos, todas las alteraciones funcionales, todas las lesiones anatómicas de la fiebre amarilla, no son sino el resultado de la acción eminentemente *esteatógena*, *emética* y *hemolítica* de las sustancias tóxicas elaboradas por el *bacillus icteroide*. Es quizás por esto que, á causa de sus síntomas generales, por las características manifestaciones ataxo-adinámicas, por la tendencia á las hemorragias, por la ictericia, etc., la fiebre amarilla había sido comparada al envenenamiento producido por el veneno de algunas serpientes!

Otro punto de contacto entre los dos procesos morbosos, consiste en la gastroentritis hematógena, que en los casos de envenenamiento se atribuye erróneamente, aún hoy, á una especie de *esfuerzo eliminador del organismo*.

Ahora que hemos eliminado la vía de ingreso y el asiento electivo completamente arbitrario que se le había asignado en el tubo digestivo, siguiendo las antiguas costumbres doctrinarias,

veamos por qué vía ese microbio penetra en el organismo para fabricar su veneno, y digamos desde ahora que es éste un punto bastante difícil de establecer con exactitud.

En los países donde reina la fiebre amarilla, no se han recogido todavía documentos bastante demostrativos para establecer la trasmisión hídrica; al contrario, existe un gran número de hechos que hablarían resueltamente en favor de la trasmisión atmosférica.

El único ejemplo citado siempre por los autores, relativamente á la atenuación de la fiebre amarilla en Vera Cruz, después que la ciudad fué dotada de buena agua potable, no puede tener sino un valor enteramente relativo, como todas las afirmaciones de ese género.

Es una tendencia demasiado exclusiva, atribuir á la realización de una sola medida higiénica el mejoramiento sanitario de una ciudad; se trata casi siempre de un conjunto de mejoras higiénicas, que forzosamente han debido precederla ó acompañarla.

Por otra parte, la notable resistencia á la desecación y al ambiente hídrico que presenta el *bacillus icteroide,* nos autoriza á admitir que la difusión del virus amarillígeno puede efectuarse tanto por medio del aire, como por medio del agua. Las experiencias practicadas sobre los animales demuestran, por otra parte, que el contagio por las vías respiratorias es posible.

En cuanto al mecanismo del contagio por la vía hídrica, es un hecho fuera de duda que, cuando el epitelio de las vías digestivas está intacto, no permite en general el pasaje de ninguna clase de gérmenes patógenos. Debe, sin embargo, recordarse que en los países donde existe la fiebre amarilla, el más leve desorden de las funciones digestivas (abuso de las bebidas alcohólicas y heladas, indigestiones, abuso de frutas, etc.), sobre todo en los recién llegados, constituye, como toda causa de depresión en general, otras tantas condiciones predisponentes para determinar inmediatamente la entrada en escena de la terrible enfermedad.

No debe olvidarse, además, que los recién llegados á los paí-

ses tropicales están expuestos á un leve catarro de las vías biliares, el cual, unido al inevitable *surmenage* del hígado que lo acompaña, podría facilitar el desenvolvimiento del *bacillus icteroide* en un punto cualquiera del órgano hepático, sea cual fuere, por otra parte, la vía por la cual el microbio ha llegado al intestino.

Ahora que conocemos bien los formidables efectos del veneno amarillígeno, podemos comprender fácilmente cómo el productor de él deba encontrar, sin gran trabajo, la manera de resistir y de difundirse en cualquier órgano en que llegue á penetrar, con ó sin otras causas coadyuvantes; nada más fácil, en efecto, que la penetración del *bacillus icteroide* hasta el intestino, desde el momento que él forma parte de la flora microbiana de las localidades donde existe la fiebre amarilla.

La marcada tendencia á las lesiones del órgano hepático representaría, pues, en los países cálidos, no sólo una de las condiciones que más fácilmente predisponen al amarillismo, sino que, una vez establecido éste, sería la causa principal de esas infecciones secundarias que imprimen una fisonomía á veces tan extraña é intrincada al resultado de la investigación bacteriológica de la fiebre amarilla, y que indudablemente contribuyen de una manera notable á aumentar la mortalidad espantosa de esta enfermedad.

Nos hemos detenido ya bastante sobre el origen, la duración y terminación de estas infecciones secundarias, que tan obstinadamente han contribuído á ocultar durante tanto tiempo el verdadero agente específico de la fiebre amarilla.

El estudio experimental de estas infecciones secundarias nos ha hecho asistir á una serie de fenómenos biológicos, que arrojan una luz enteramente nueva sobre las relaciones recíprocas entre el agente del amarillismo y los de la infección secundaria.

El *bacillus icteroide*, sea por efecto de su veneno específico, sea por la grave lesión hepática, que es su consecuencia más inmediata, favorece, en un momento dado, la entrada en el organismo de los microbios sépticos; los cuales, no solamente concluyen con la enfermedad mucho antes de lo que podría hacerlo el agente específico, sino que resultan después perjudiciales

también para este último, invadiendo inmediatamente sus dominios, suprimiéndole la facultad vegetativa y aún su propia vitalidad.

Es por esto que esos fenómenos de antagonismo microbiano entre el bacillus amarillígeno y los de las infecciones sépticas, en vez de ser útiles al paciente que representa el teatro de acción, concluyen, al contrario, por apresurar su fin.

Pero hay otro curioso fenómeno biológico, que adquiere un inmenso valor en la epidemiología de la fiebre amarilla. Se trata de la extraña simbiosis que hemos señalado entre el *bacillus icteroide* y los mohos.

Estos últimos se han revelado como los protectores naturales del agente específico de la fiebre amarilla, porque es gracias á su intervención que este último puede encontrar fuerzas para vivir y para multiplicarse, allí donde la impropiedad del medio nutritivo ó la acción desfavorable de temperaturas disgenésicas harían enteramente imposible su existencia.

La intervención de este factor tan insignificante, al parecer, constituye quizá la causa principal de la aclimatación de la fiebre amarilla, en ciertas localidades donde parece encontrar condiciones extraordinariamente apropiadas á su triste dominio.

Sabemos, en efecto, que una de las condiciones consideradas como indispensables para el desarrollo de la fiebre amarilla, la humedad, representa junto con el calor, el elemento más favorable al desenvolvimiento de los mohos. Es sobre todo á la falta de ventilación y al excesivo estado higrométrico de la atmósfera, que se cree debida la insalubridad de Río Janeiro.

Durante la gran epidemia de fiebre amarilla de Montevideo en 1872, eran atacados con una preferencia inexplicable, sólo los habitantes de las casas orientadas hacia el norte de la ciudad. Ahora bien: tanto las casas como el lado de las calles orientadas hacia el norte, se distinguen en Montevideo por su humedad verdaderamente excepcional.

Es por lo tanto probable que el factor humedad, tanto á bordo de los navíos, como sobre las costas y en el interior de los países, represente el coeficiente principal de un fenómeno biológico, más bien que esa influencia meteorológica banal, cuya

acción es siempre idéntica en la etiología de casi todas las enfermedades epidémicas.

Por otra parte, la notable resistencia que presenta el *bacillus icteroide* á la acción del factor principal de la desinfección natural, es decir, á la desecación, y su grande longevidad en el agua del mar, explican suficientemente la fácil aclimatación del tifus icteroide y su tenaz persistencia, sobre todo en las localidades marítimas afligidas por la presencia de su agente específico.

FIN

EXPLICACIÓN DE LAS PLANCHAS

PLANCHA I

CULTIVOS DEL «BACILLUS ICTEROIDE» SOBRE PLACAS DE GELATINA

Fig. 1. — Cultivo típico desarrollado á la temperatura de cerca 18° C., después de 36 horas. Las diversas colonias aparecen fina y uniformemente granulosas (60 diám.).

Fig. 2. — El mismo cultivo, después de 3 días. Las colonias siguen poco á poco aumentando de volumen, pero en la mayor parte de ellas no se observa todavía la formación del núcleo.

Figs. 3-4. — Colonias típicas, completamente desarrolladas.

Figs. 5-6. — Colonias reniformes: variedad muy frecuente en todos los cultivos en placas de gelatina desarrolladas normalmente.

PLANCHA II

CULTIVOS DEL «BACILLUS ICTEROIDE» SOBRE GELOSA

Figs 1-10. — Cultivos sobre gelosa, obtenidos por medio de siembras en estría con jugo de varios órganos y de la sangre, desarrolladas primero durante 12-24 horas en la estufa á 37° C., y después mantenidas á la temperatura del ambiente durante varios días.

La fotografía del cultivo núm. 1 fué sacada después de 18 horas de desarrollo en la estufa y 13 horas de permanencia á la temperatura del ambiente. El *rodete* opaco for-

mado á la temperatura del ambiente, está apenas delineado en blanco en algunas colonias. En los otros cultivos se ve claramente, en tamaño natural, la parte central, cuyo crecimiento se efectuó á 37° C., rodeada por la zona periférica desarrollada á la temperatura del ambiente, con mayor ó menor intensidad. Las figuras 5, 6, 8, 9 y 10 representan cultivos perfectamente característicos del *bacillus icteroide.*

Fig. 11.—Representa un cultivo sobre gelosa, obtenido después de varios días, siempre á la temperatura del ambiente (cerca 18 á 20°). En este caso el desarrollo de las colonias, por más que hayan crecido distantes unas de otras, no presentan ninguna semejanza con los cultivos precedentes.

Fig. 12.—Representa un cultivo por siembra en estría, desarrollado á la temperatura del ambiente. El aspecto de éste es perfectamente idéntico al precedente.

PLANCHA III

DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DEL «BACILLUS ICTEROIDE»

Fig. 1. — Cultivo por estría sobre gelosa (de jugo del bazo), desarrollado durante 12 horas en la estufa á 37° C.

Figs. 2 - 3. — Cultivo por estría sobre gelosa (por dilución de un caldo-cultivo), desarrollado durante 18 horas en la estufa á 37° C.

Fig. 4. — Cultivo por estría sobre gelosa (por dilución de un caldo-cultivo), desarrollado durante 12 horas en la estufa á 37° y durante otras 12 horas á la temperatura del ambiente de 20°. Se observa ya netamente el *rodete* que se ha ido formando alrededor de la colonia desarrollada en la estufa.

Fig. 5. — El mismo cultivo fotografiado después de haber permanecido durante 5 días consecutivos á la temperatura del ambiente, de 18° á 20° C.

Figs. 6 - 7. — Los mismos cultivos fotografiados después de haber permanecido durante 5 días á la temperatura del ambiente de 18 á 20° C.

Fig. 8. — El mismo cultivo fotografiado después de haber permanecido otros 5 días á la temperatura del ambiente.

Los *rodetes* de las colonias han continuado su crecimiento en superficie hasta juntarse, disminuyendo al mismo tiempo su espesor.

PLANCHA IV

PREPARACIONES MICROSCÓPICAS DEL «BACILLUS ICTEROIDE»

Fig. 1. — Cultivo de 24 horas en caldo-lactosado al 2 %.
Fig. 2. — Cultivo de 24 horas en gelosa.
Fig. 3. — Cultivo de 24 horas en caldo de carne peptonizado.
Fig. 4. — El mismo cultivo después de 10 días (formas de involución).
Fig. 5. — Exudado peritoneal de un cobaya muerto por infección general, 6 días después de la inyección peritoneal de un caldo-cultivo.
Fig. 6. — Pestañas vibrátiles del *bacillus icteroide* (de un cultivo sobre gelosa. Coloración con el método de *Nicolle-Morax*).

PLANCHA V

COLONIAS DEL «BACILLUS ICTEROIDE» DESARROLLADAS EN CULTIVOS SOBRE PLACAS DE GELATINA

Figs. 1-7. — Colonias típicas, normales, desarrolladas á la temperatura de 18° á 20° C.
Figs. 8-10. — Variedad joven algo atípica, pero frecuente, de la misma colonia.
Fig. 11. — Variedad adulta muy frecuente.
Fig. 12. — Variedad reniforme en estado adulto.
Figs. 13-16. — Viejas colonias que han permanecido estacionarias en diversas fases de su desarrollo.

POLIMORFISMO PRESENTADO POR 3 VARIEDADES DEL «BACILLUS COLI COMMUNIS»

A. — 1.ª variedad de *colibacillus*, aislada sobre gelatina, del contenido intestinal de un sujeto muerto de fiebre amarilla (cultivo de 48 horas).

Fig. a. — Aspecto de las colonias de 48 horas, procedentes de la misma variedad *A*, y desarrolladas sobre dos placas distintas (I y II), sembradas al mismo tiempo.

Fig. b. — Aspecto de las colonias de 5 días, íd., sobre las mismas placas.

Fig. c. — Aspecto de las colonias de 15 días, íd., íd.

B. — 2.ª variedad de *colibacillus* aislada como la anterior (cultivo de 48 horas).

Fig. a. —Aspecto de las colonias de 48 horas, procedentes de la misma variedad *B* y desarrolladas sobre dos placas distintas (I y II), sembradas al mismo tiempo.

Fig. b. — Aspecto de las colonias de 5 días, íd., sobre las mismas placas.

Fig. c. — Aspecto de las colonias de 15 días, íd., íd.

C. — 3.ª variedad de *colibacillus*, aislada como las anteriores (cultivo de 48 horas).

Fig. a. — Aspecto de las colonias de 48 horas, procedentes de la misma variedad *C* y desarrolladas sobre dos placas distintas (I y II), sembradas al mismo tiempo.

Fig. b. — Aspecto de las colonias de 5 días, íd., sobre las mismas placas.

Fig. c. — Aspecto de las colonias de 15 días, íd., íd.

PLANCHA VI

COLORACIÓN DEL BACILLUS ICTEROIDE EN LOS TEJIDOS HUMANOS

(Vísceras de la Observación II)

Fig. 1. — Hígado humano expuesto durante 12 horas en la estufa á 37° y coloreado con el método de *Nicolle* (500 diám. Zeiss. Oc. 4., Obj. 2.0 mm.).

Fig. 2. — La misma preparación observada con 1000 diámetros (Zeiss. Oc. c. 8, Obj. 2.0 mm.).
Fig. 3. — La misma preparación observada con 2250 diámetros (Zeiss. Oc. c. 18, Obj. 2.0 mm.).
Fig. 4. — Riñón humano, observado con 1200 diámetros (Zeiss. Oc. c. 12, Obj. 2.5 mm.).
Fig. 5. — Bazo humano (800 diám. Zeiss. Oc. c. 8, Obj. 2.5 mm.).

PLANCHA VII

COLORACIÓN DEL «BACILLUS ICTEROIDE» EN LOS TEJIDOS DEL CONEJO

Fig. 1. — Hígado de un conejo muerto en 5 días por inyección subcutánea. — Coloración con el método de Nicolle. 750 diámetros (Zeiss, Oc. c. 6, Obj. 2.0 mm.).
Fig. 2. — La misma preparación. 1800 diámetros (Zeiss. Oc. c. 18, Obj. 2.5 mm.).
Fig. 3. — Bazo del mismo conejo. 1000 diámetros (Zeiss. Oc. c. 8, Obj. 2.0 mm.).
Fig. 4. — Riñón del mismo conejo. 750 diámetros (Zeiss. Oc. c. 6, Obj. ap. 3.0 mm.).
Figs. 5-6-7. — Fagocitos llenos de *bacillus icteroides*, observados en el exudado peritoneal de un cobaya muerto en 5 días por inyección subcutánea. El exudado no contenía ningún microbio libre.
Fig. 8. — Preparación por aplastamiento de la pulpa esplénica de un conejo muerto en 48 horas, después de una inyección endovenosa.

Esta clase de preparaciones, especialmente si se colorean con violeta de genciana, se prestan admirablemente para la demostración de los espacios claros en los microbios desarrollados en el organismo animal.

Fig. 9. — Cultivo de 24 horas en caldo-lactosado, hecho directamente con la sangre de un enfermo de fiebre amarilla (Observación II), en el que el *bacillus icteroide* se hallaba en estado de pureza.

Todos los microbios presentan formas muy precoces de involución.

PLANCHA VIII

ALTERACIONES DEGENERATIVAS PRODUCIDAS POR EL «BACILLUS ICTEROIDE» EN LOS DISTINTOS TEJIDOS

(Fijación en líquido de Flemming, coloración con la safranina, decoloración con ácido pícrico)

Fig. 1. — Hígado humano (Observación II), 750 diámetros (Zeiss. Oc. c. 12, Obj. a. 4.0 mm.).
Fig. 2. — Hígado de conejo muerto á los 5 días de una inyección subcutánea. 750 diámetros (Zeiss. Oc. c. 12, Obj. a. 4.0 mm.).
Fig. 3. — Hígado de perro muerto por inyección intravenosa. 175 diámetros (Koritska Oc. 3, Obj. 5).
Fig. 4. — La misma preparación. 750 diámetros (Zeiss. Oc. c. 12, Obj. a. 4.0 mm.).
Fig. 5. — Riñón del mismo perro. 1200 diámetros (Zeiss. Oc. c. 12, Obj. a. 2.5 mm.).
Fig. 6. — Degeneración mucosa, descamación epitelial y grave infiltración en la capa superficial de la mucosa gástrica, de un perro muerto á las 24 horas, por inyección endovenosa. 1000 diámetros (Zeiss. Oc. c. 8, Obj. ap. 2.0 mm.).

PLANCHA IX

ALTERACIONES ANATÓMICAS EN LA FIEBRE AMARILLA EXPERIMENTAL

Fig. 1. — Hígado en completa degeneración grasa, perteneciente al mono de la Experiencia II, muerto después de 7 días de enfermedad. (Tamaño natural.)
Fig. 2. — Estado de la mucosa gástrica en la infección amarilla de los perros. (Gastritis hematógena.)
Fig. 3. Estado de la mucosa intestinal en la infección amarilla de los perros. (Enteritis hematógena.)

PLANCHA X

ALTERACIONES DEGENERATIVAS DEL HÍGADO Y DE LOS RIÑONES, EN EL ENVENENAMIENTO ICTEROIDE Y EN EL ENVENENAMIENTO FOSFÓRICO.

Fig. 1. — Hígado de la cabra número 2, muerta en 18 días, á consecuencia de la inyección de 37 c. c. de toxina icteroide (750 diám. Zeiss. Oc. c. 6, Obj. a. 2.0 mm.).
Fijación por el líquido de Flemming y coloración con safranina-ácido pícrico.
Fig. 2. — Riñón de la misma cabra (el mismo aumento y la misma preparación).
Fig. 3. — Riñón de perro muerto en 2 días por envenenamiento fosfórico (el mismo aumento y la misma preparación).
Fig. 4. — Hígado del mismo perro. (Ídem.)
Fig. 5. — Jugo hepático de N. Q. (Véase Observación IV), tratado con toxina icteroide, extraído el día 14 de Noviembre, mediante una punción exploradora, y conservado por 12 horas en una preparación con ácido ósmico. (El mismo aumento.)

PLANCHA XI

TRAZADOS TERMOGRÁFICOS DE LA FIEBRE AMARILLA HUMANA NATURAL Y EXPERIMENTAL

Fig. 1. — Curva febril de E. N. (Véase Observación III.)
Fig. 2. — Curva febril esquemática de un caso mortal de fiebre amarilla. (Según los doctores F. Fajardo y C. Seidl de Río Janeiro.)
Fig. 3. — Curva febril de N. Q. (Véase Observación IV.)
Fig. 4. — Curva febril de un caso de fiebre amarilla de marcha muy rápida. (Según el doctor Naegeli de Río Janeiro.)
Fig. 5. — Curva febril de P. B. (Véase Observación V.)

PLANCHA XII

FENÓMENOS DE SYMBIOSIS DEL «BACILLUS ICTEROIDE»

Fig. 1. — *Streptococcus* cultivados en un viejo cultivo de *bacillus icteroide*. Se observan los *streptococcus* desarrollados en larguísimas cadenas, envolviendo á las formas involutivas características del *bacillus icteroide*.

Fig. 2. — El mismo *streptococcus* cultivado, en cultivo puro, en caldo-lactosado.

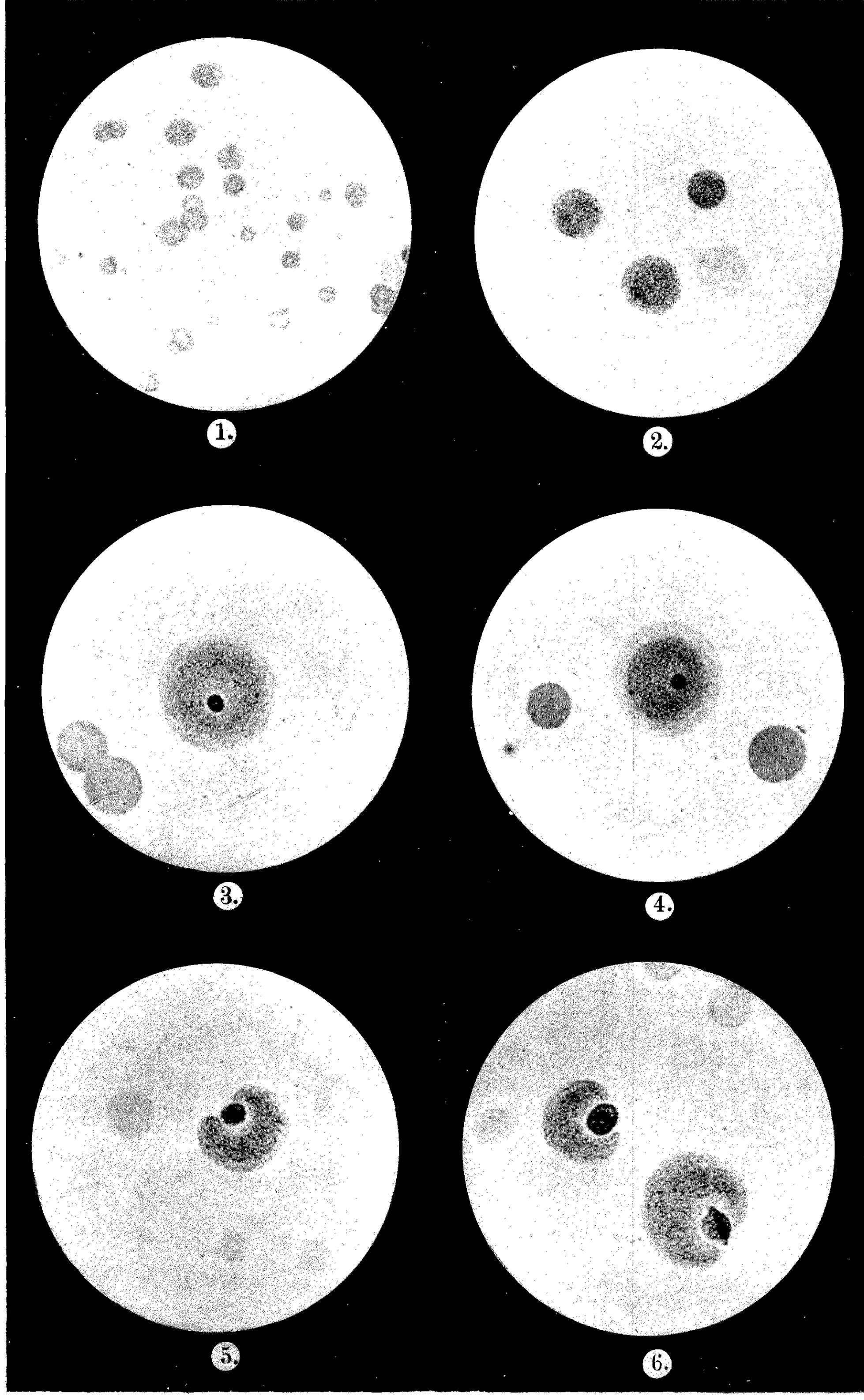
Fig. 3. — Una placa de gelatina en la cual se manifiesta claramente la acción favorecedora de los mohos sobre el desarrollo de las colonias icteroides. Sobre el cultivo en gelatina, en la cual había sido sembrada desde hacía varias semanas, pero sin resultado, una abundante cantidad de *bacillus icteroide*, han caído de la atmósfera varios mohos, alrededor de los cuales han comenzado á aparecer en gran número las colonias icteroides.

ÍNDICE

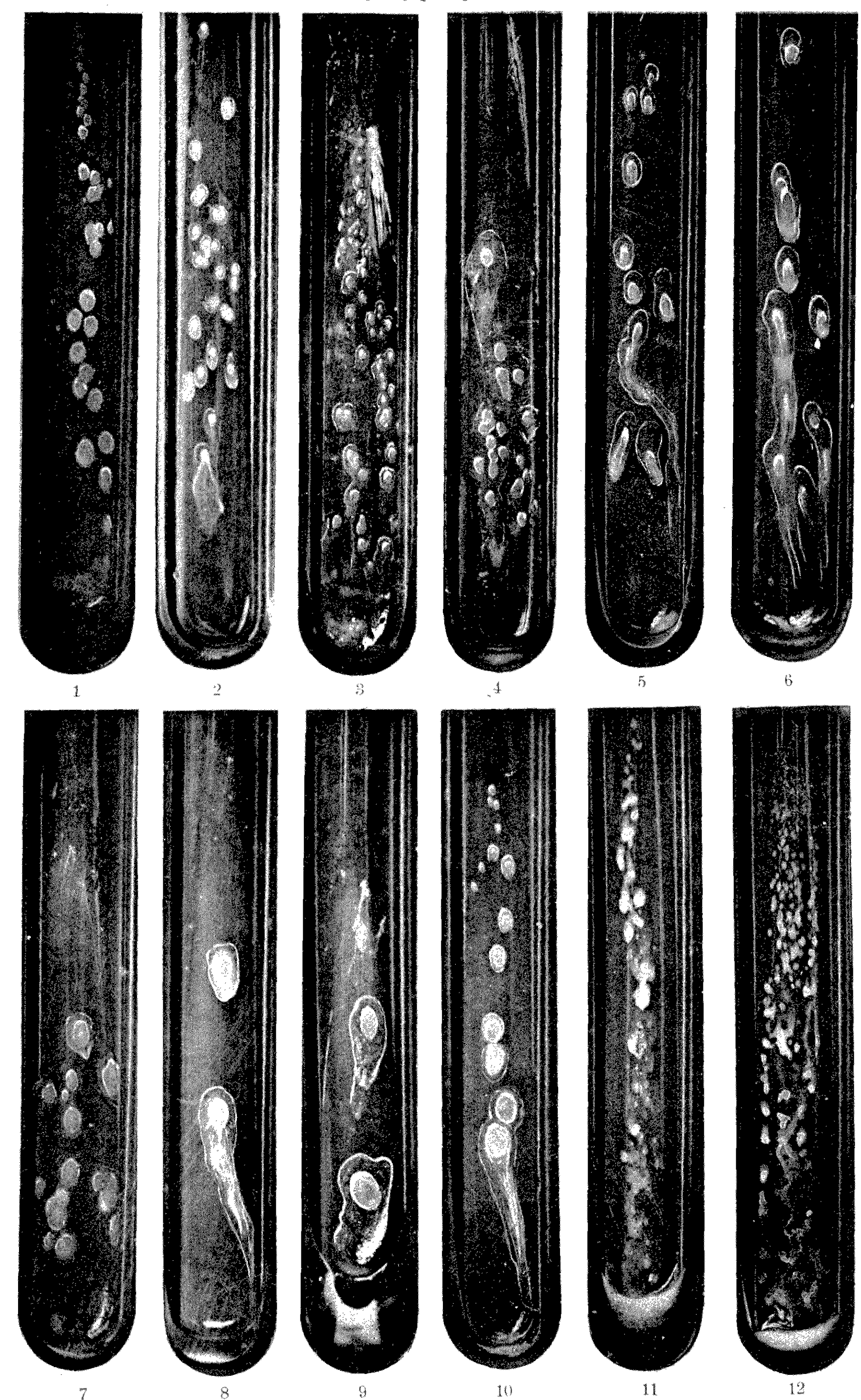
ÍNDICE

PRIMERA PARTE

SEGUNDA PARTE

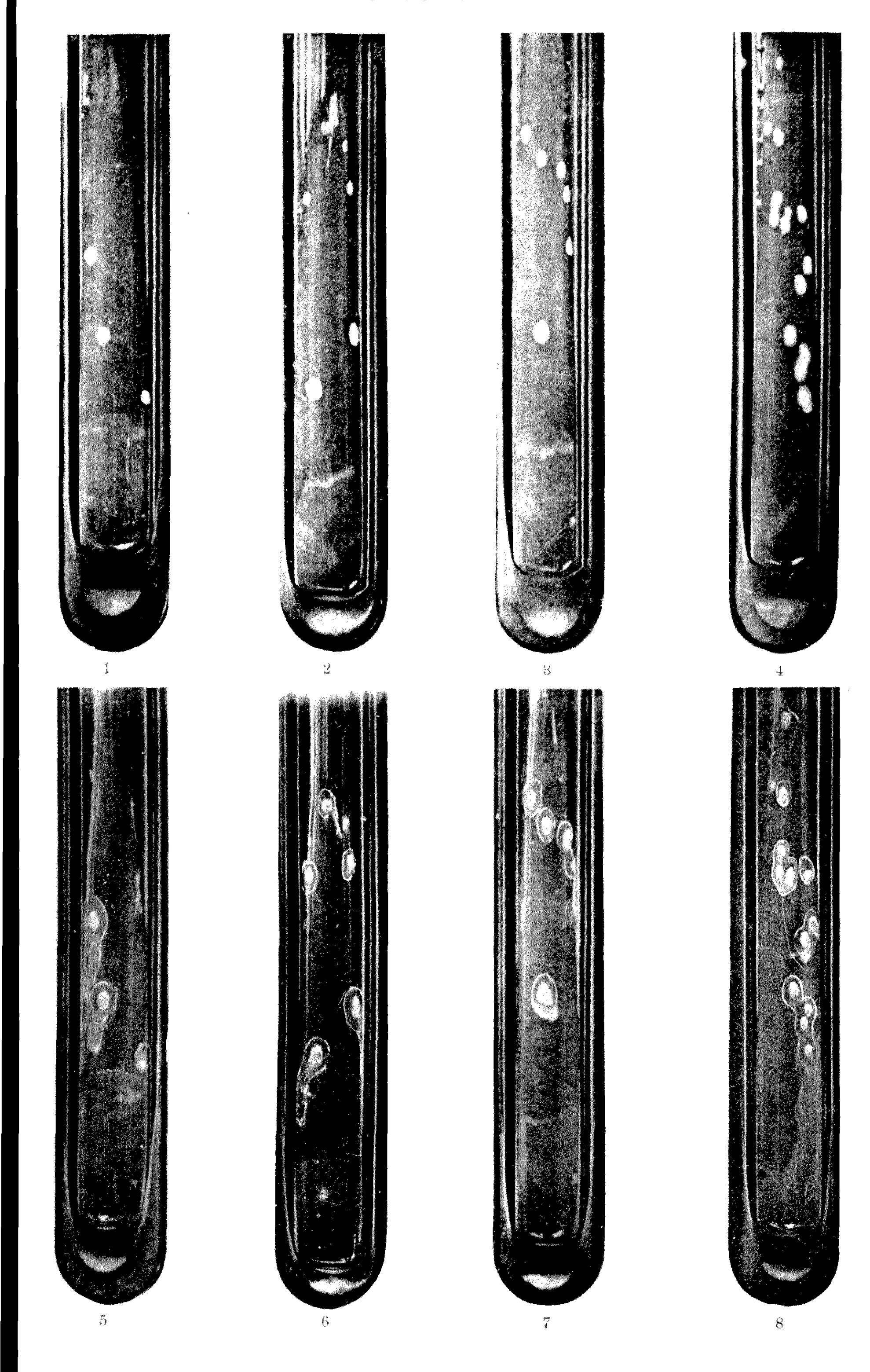


Dr SANARELLI FECIT. TALLERES DEL MUSEO LA PLATA

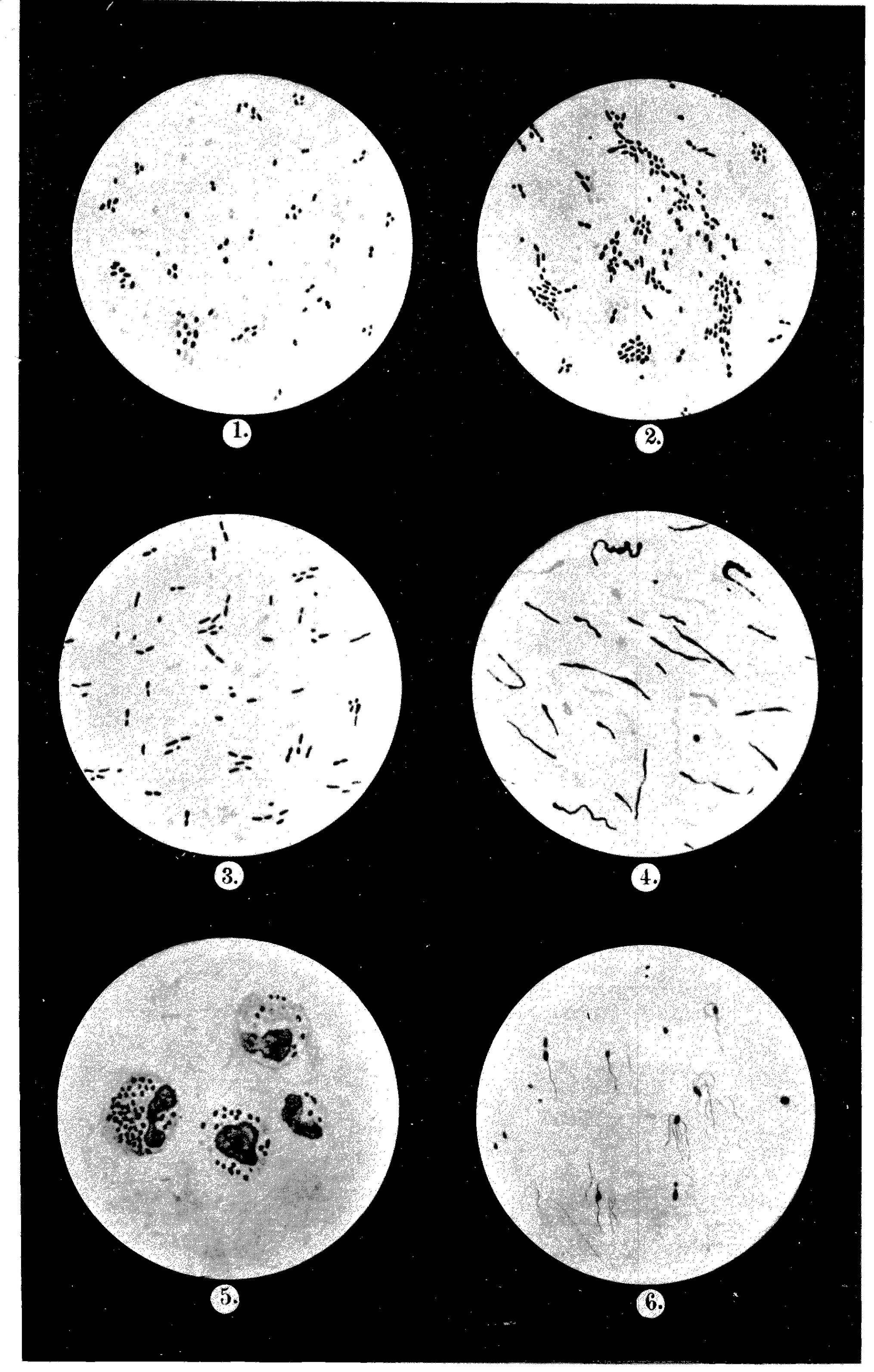


Dr Sanarelli fecit.

Talleres del Museo La Plata

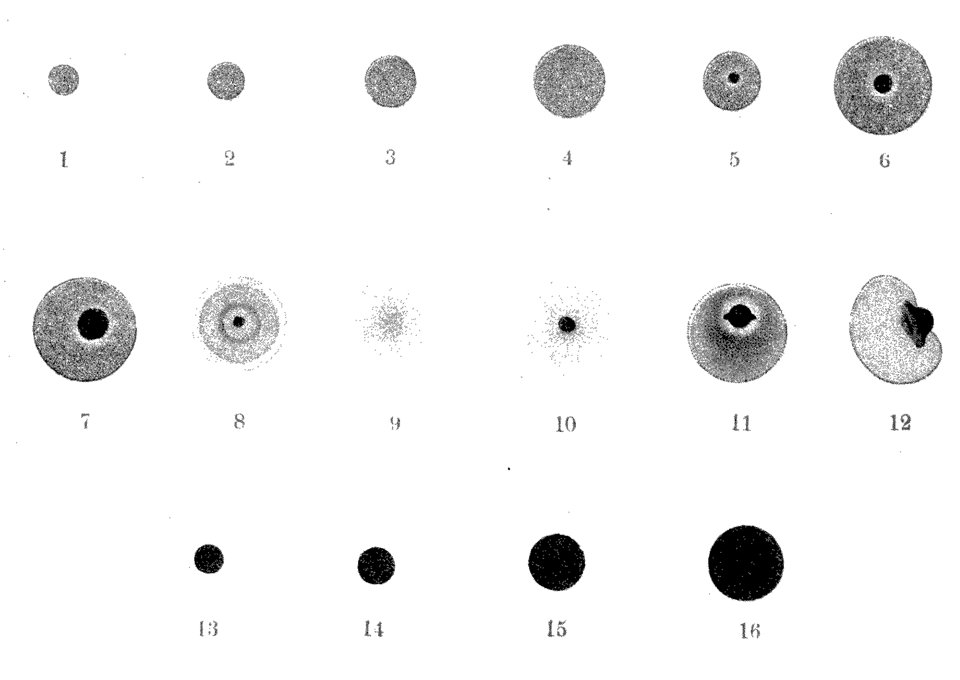


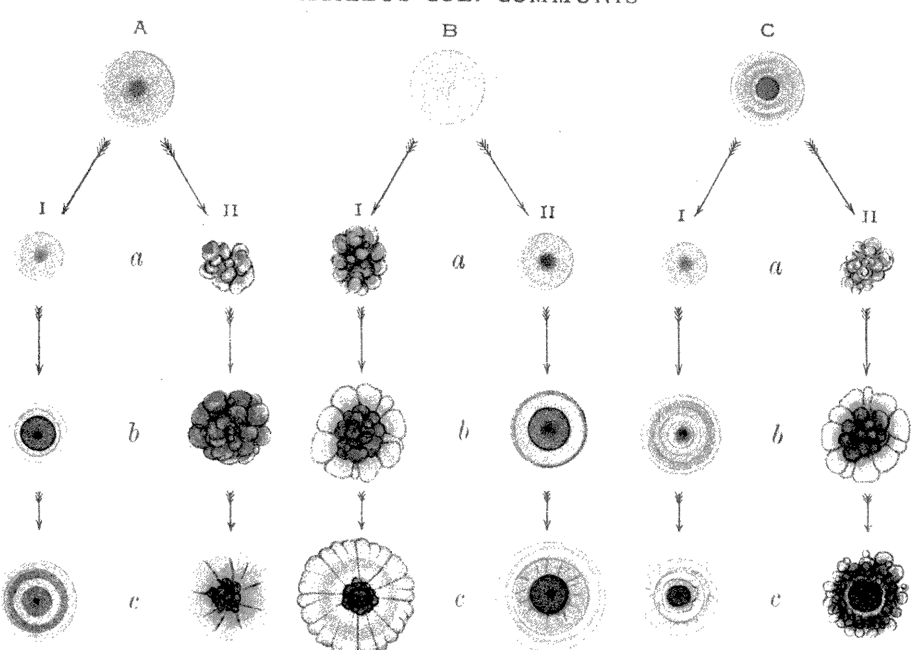
ANARELLI FECIT. TALLERES DEL MUSEO LA PLATA



Dr SANARELLI FECIT.

TALLERES DEL MUSEO LA PLATA


BACILLUS ICTEROÏDES
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16


BACILLUS COLI COMMUNIS
A
B
C
I
II
I
II
I
II
a
a
a
b
b
b
c
c
c

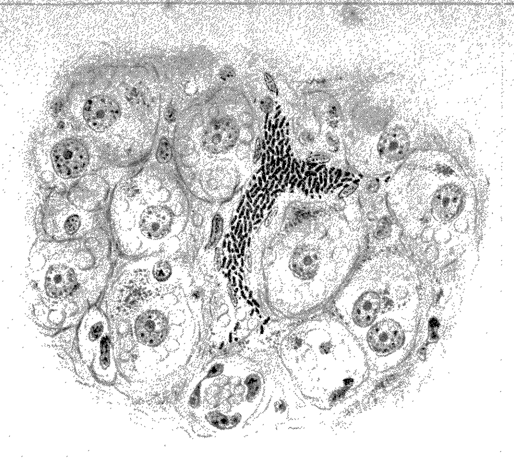


Fig. 2

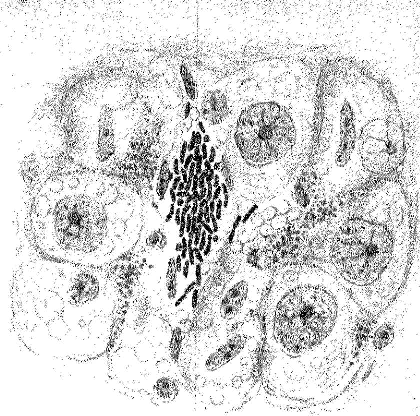


Fig. 3

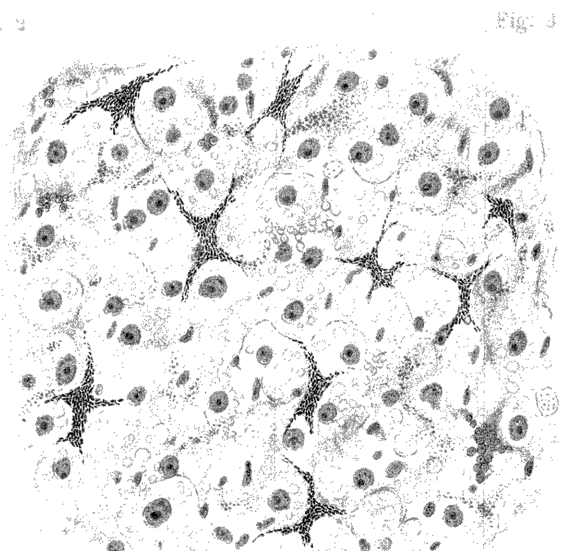


Fig. 1

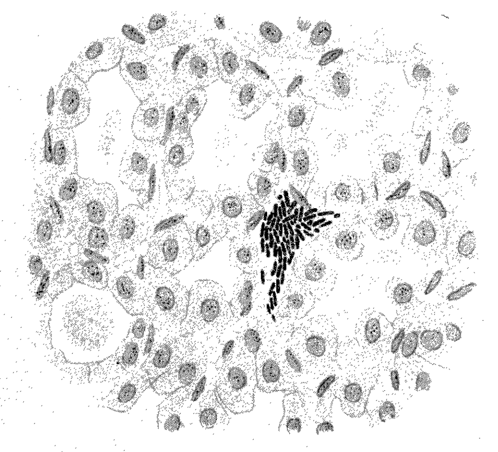


Fig. 4

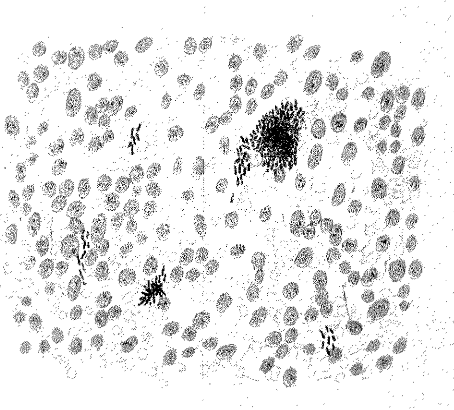
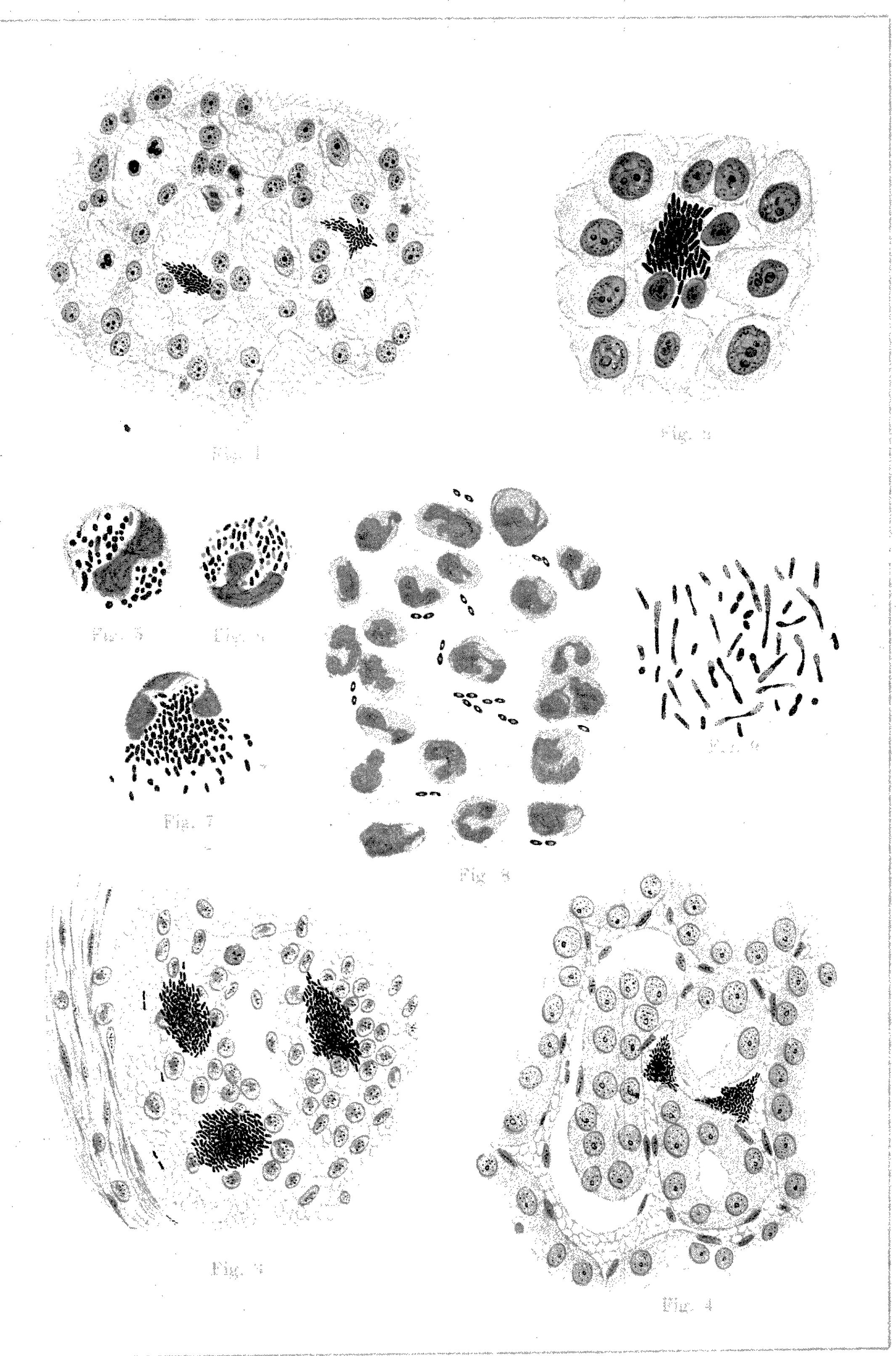
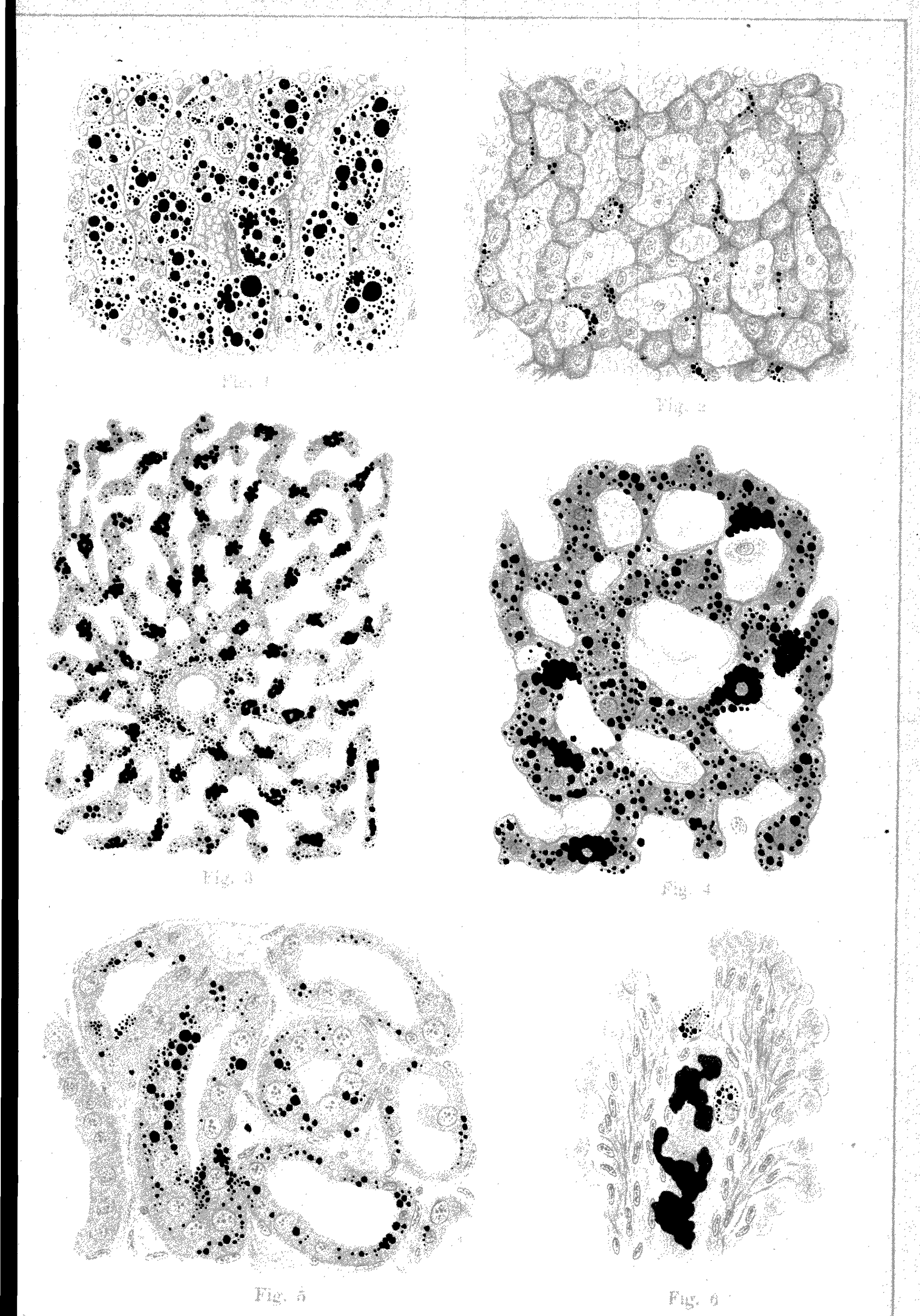
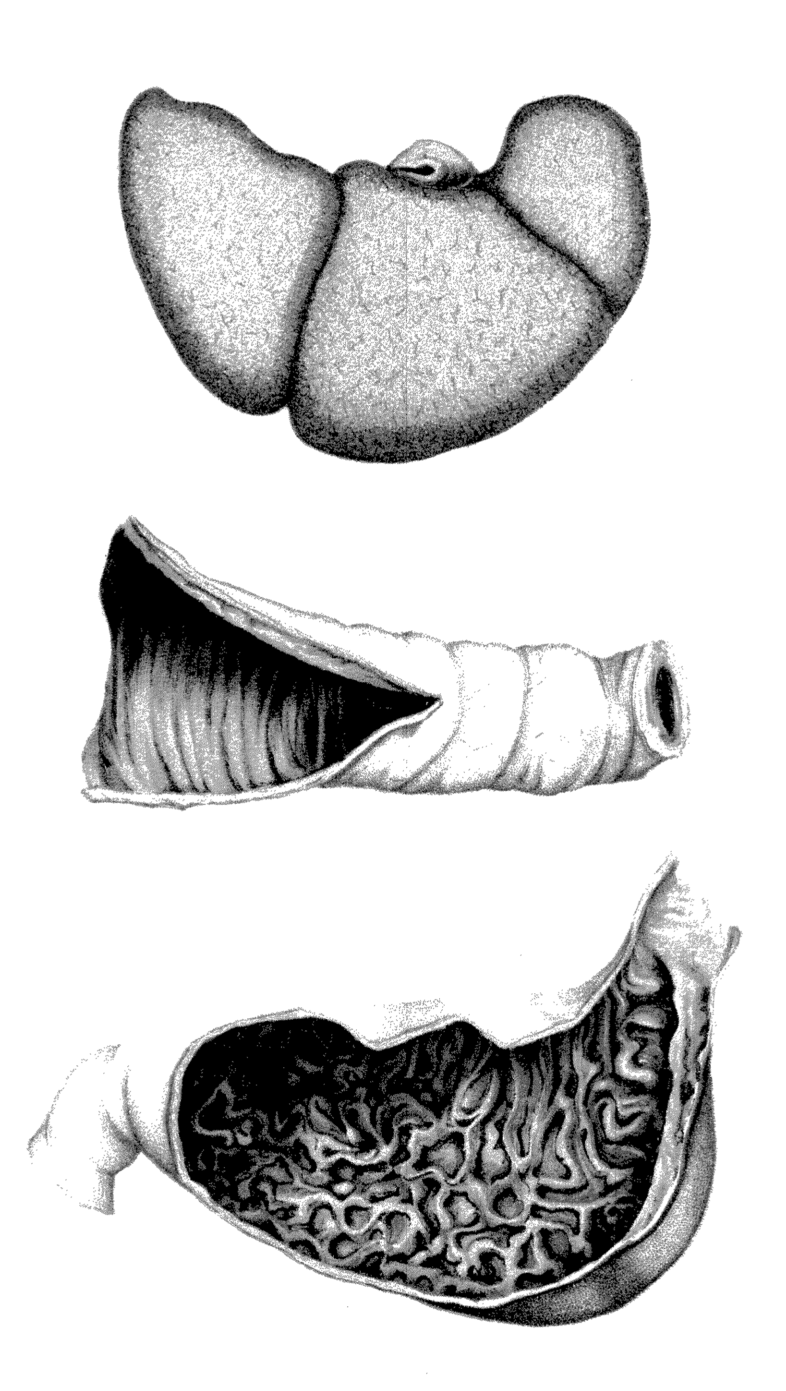


Fig. 5



Tip. Lit. "La Sud-Americana" Treinta y Tres


Fig. 1
Fig. 2
Fig. 3
Fig. 4
Fig. 5
Fig. 6



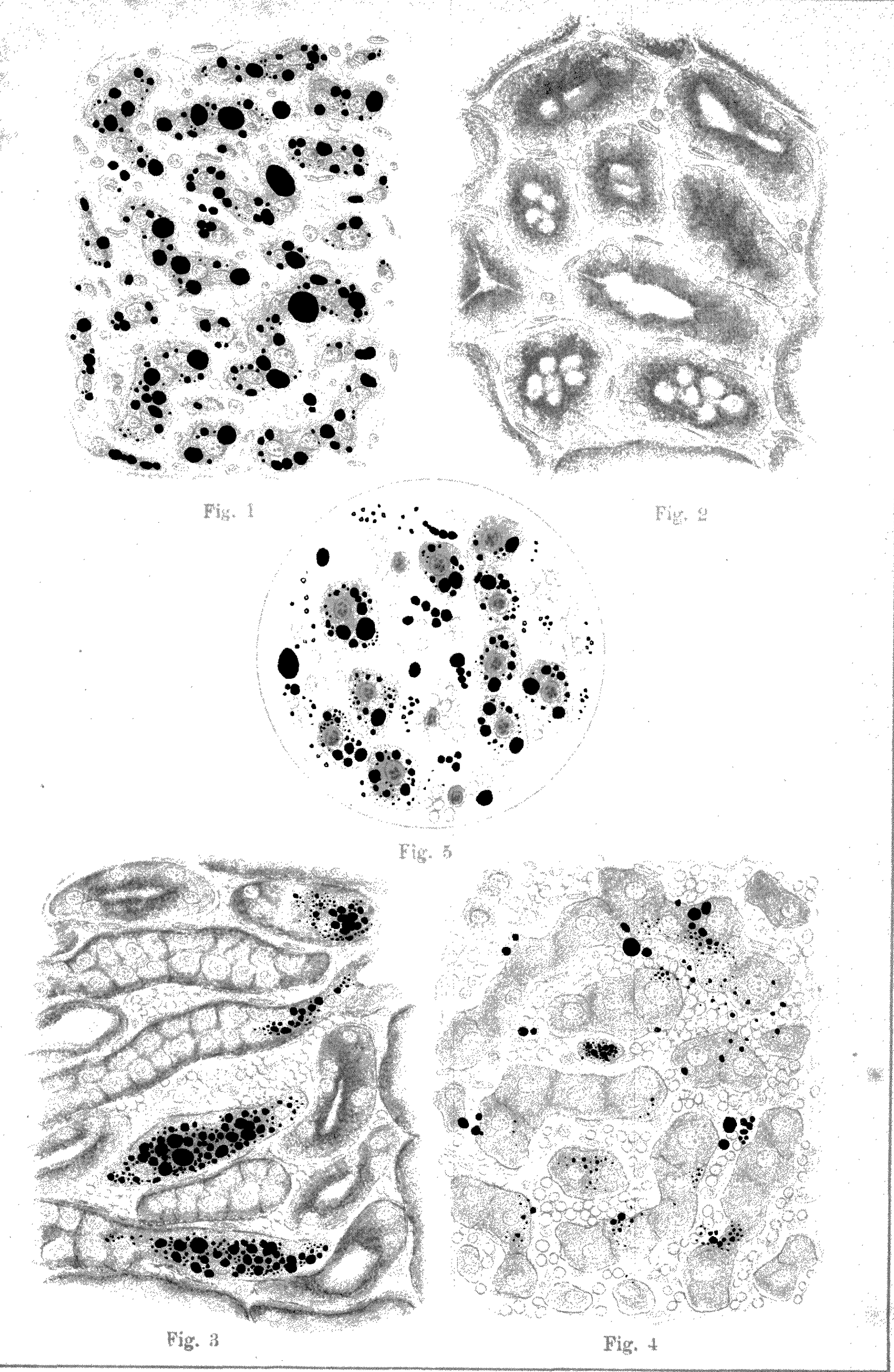


Fig. 1

Fig. 2

Fig. 5

Fig. 3

Fig. 4

Dr. SANARELLI DEL.

Tip. Lit. "La Sud-Americana" — Montevideo.

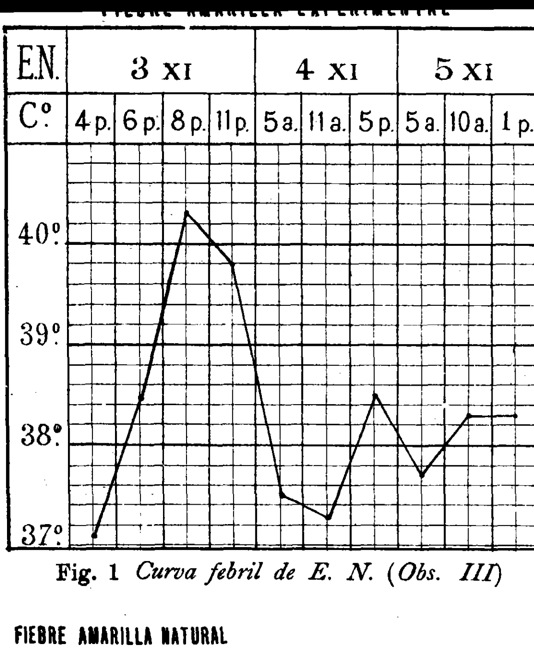


Fig. 1 *Curva febril de E. N. (Obs. III)*

FIEBRE AMARILLA NATURAL

Fig. 2 *Curva febril esquemática de un caso mortal de fiebre amarilla (Segun los Drs. F. Fajardo y C. Seidl de Río de Janeiro)*

FIEBRE AMARILLA EXPERIMENTAL

Fig. 3 *Curva febril de N. Q. (Obs. IV)*

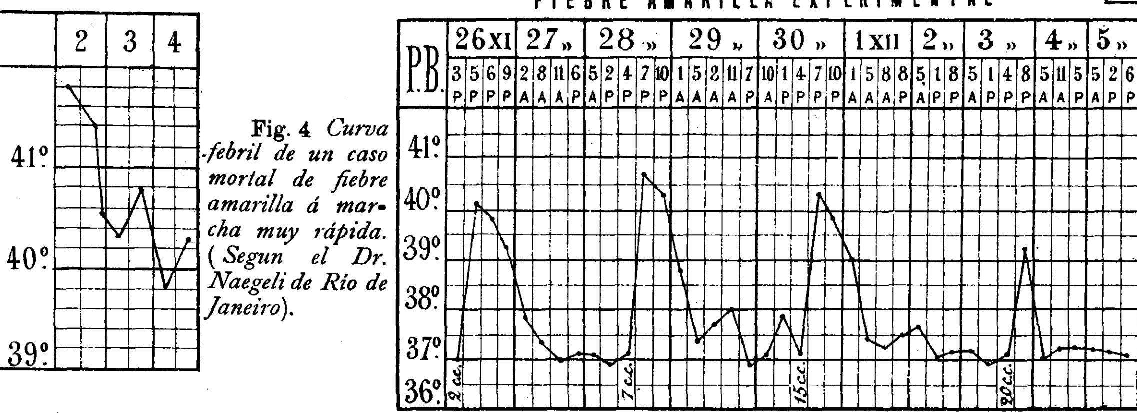


Fig. 4 *Curva febril de un caso mortal de fiebre amarilla á marcha muy rápida. (Segun el Dr. Naegeli de Río de Janeiro).*

Fig. 5 *Curva febril de P. B. (Obs. V)*



Fig. 1

Fig. 2

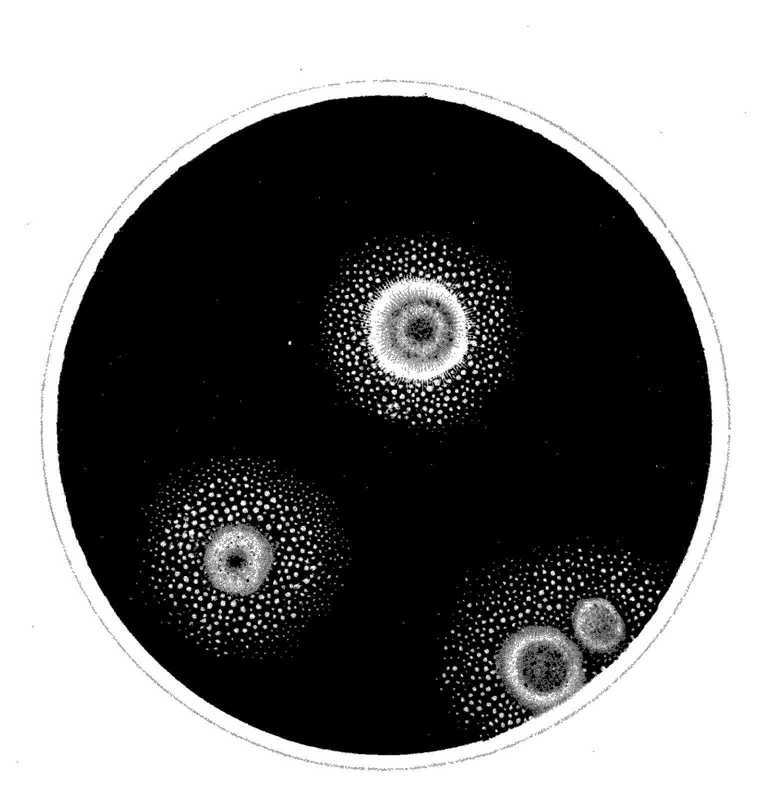


Fig. 3